UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

ZEITSCHRIFT
FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND
VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET
VON

CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN
G. MELCHERS · F. OEHLKERS · H. STUBBE

87. BAND 2. HEFT
MIT 50 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 21. NOVEMBER 1955)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1955

Z. Vererbungslehre

Preis DM 36.—

Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre.

Begründet 1908. Herausgegeben von C. Correns, V. Haecker, G. Steinmann, R. v. Wettstein, Erwin Baur u. a. Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Bornträger, ab Band 82 (1948) Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind *unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung* an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh/Schottland,

Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,

Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,

Professor Dr. Alfred Kühn, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, Spemannstraße 34,

Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Correnstraße 41,

Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,

Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Halle), Institut für Kulturpflanzenforschung.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei den Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Correnstraße 41,*

alle die Zeitschrift betreffenden *geschäftlichen* Mitteilungen an den

Springer-Verlag, (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,*

zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:
G. Melchers
H. Stubbe

Berlin W 35
Reichpietschufer 20
Fernsprecher: 249251

Inhaltsverzeichnis auf Seite 3

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 87, S. 187—207 (1955).

Aus dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung Berlin-Dahlem
(Direktor: Prof. Dr. KAPPERT).

GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEN TETRADEN EINER HÖHEREN PFLANZE *(SALPIGLOSSIS VARIABILIS)*.

Von

R. REIMANN-PHILIPP*.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Juni 1955.)

Inhaltsübersicht.

Seite
A. Einleitung 187
B. Die Voraussetzungen für die Durchführung von Tetradenversuchen bei *Salpiglossis*
1. Die Erzeugung und Verwendung strahleninduzierter Chlorophyllmutanten für die „Füllbestäubungen" 189
2. Die Beschleunigung der Generationsfolgen durch Kunstlichtkultur 191
C. Das Material, die Technik und die Ergebnisse der Versuche
1. Die untersuchten Merkmale und die Versuchsmethodik 192
2. Die Pollenfertilität und die Häufigkeit voll-, teilweise fertiler und vollsteriler Tetraden 193
3. Die Merkmalsspaltungen innerhalb der Nachkommenschaften der Einzeltetraden. 195
D. Diskussion der Ergebnisse
1. Der Nachweis von Konversionen bei den Blütenform-Allelen von *Salpiglossis* . . 200
2. Die Häufigkeit des Spalthälftenaustausches 204
3. Die Bedeutung der Pollenfertilität und die Möglichkeit ihrer Erhöhung 205
Zusammenfassung der Ergebnisse 206

A. Einleitung.

Organismen, bei denen die 4 Abkömmlinge einer Pollenmutterzelle im Tetradenverband erhalten bleiben, eignen sich besonders gut zum Studium der Gesetzmäßigkeiten bei der Verteilung der Erbanlagen in der Meiosis. Das anfängliche Ziel tetradenanalytischer Untersuchungen, das Zusammenfallen von Chromosomenreduktion und Anlagenverteilung sowie die Unveränderlichkeit der Erbanlagen im Bastard zu bestätigen, erweiterte sich bald auf Fragen des Spalthälftenaustausches, der Chromatideninterferenz, der Centromerenlokalisation und ganz besonders der Konversionstheorie, mit der WINKLER die Koppelungs- und Austauschphänomene nicht durch crossing-over deutet, sondern durch die Annahme, daß in Bastarden die heterozygotisch vorhandenen Allele durch Mutation in den homozygotischen Zustand überführt werden können. Derartige „Konversionen" könnten eine Veränderung des idealen Gametenverhältnisses von 2:2 in 4:0, 0:4, 3:1 oder 1:3 — je nach Richtung und Zeitpunkt der Mutation — bewirken.

Solche von WINKLER erwarteten abweichenden Tetradenspaltungen wurden gerade in letzter Zeit verschiedentlich bei *Saccharomyces* beobachtet und, da die Möglichkeit einer Deutung durch Konversion auch in die Frage nach der Konstanz der Gene, und damit in die Grundvorstellungen des Mendelismus, eingreift,

* Herrn Prof. H. KAPPERT zum 65. Geburtstag gewidmet.

lebhaft diskutiert. Während Lindegren die von ihm bei *Saccharomyces* gefundenen abweichenden Tetradenspaltungen durch Konversion erklärt und damit der Winklerschen Theorie zustimmt, konnten Winge und Roberts (1954) sowie Leupold und Hottinguer (1954) die von ihnen ebenfalls bei *Saccharomyces* beobachteten abweichenden Tetradenspaltungen durch Entwicklungsanomalien bzw. das Zusammenwirken von 2 Faktoren erklären. Es gilt also, für die Beantwortung der Frage nach dem Vorkommen von Konversionen ein Versuchsobjekt zu finden, das keine solchen Anomalien erwarten läßt wie *Saccharomyces* und das auch die Voraussetzungen des Zusammenbleibens der aus derselben Mutterzelle stammenden Gonen erfüllt. Unter den niedriger stehenden Pflanzen zeigten sich außer *Saccharomyces* vor allem *Neurospora* und *Chlamydomonas* für tetradenanalytische Untersuchungen geeignet.

Bei *Neurospora crassa* wurden Tetradenanalysen von Lindegren und Lindegren, Whitehouse u. a. m. in großem Umfange durchgeführt. Sie führten zur Aufklärung der Koppelungsverhältnisse und ermöglichten die Aufstellung von Chromosomenkarten des 1. und 2. Chromosoms sowie das Studium der Chromatideninterferenz; Konversionen waren hier aber bisher nicht nachzuweisen.

Die Untersuchung der in der Zygospore der einzelligen Chlorophycee entstehenden Tetradenzellen von *Chlamydomonas* durch Pascher brachte den Nachweis des Vorkommens einer Postreduktion. Die späteren, ausgedehnten Tetradenanalysen von Moewus enthalten leider viele Unklarheiten (vgl. Harte). Die Versuche von Lewin (1953) mit *Chlamydomonas Moewusii* Gerloff lassen im Gegensatz zu den Angaben von Moewus auf eine völlig normale Meiosis mit Austausch im Vierstrangstadium schließen. Für eine exakte Bestimmung der Koppelungsverhältnisse zwischen 9 studierten Merkmalen, die 5 Koppelungsgruppen anzugehören scheinen, sind aber die Zahlen der analysierten Tetraden nach Lewin in vielen Fällen doch noch nicht genügend groß genug. Wahrscheinlich sind die erheblichen Schwierigkeiten bei der Kultur des Organismus, besonders Schwierigkeiten der Gewinnung und des Auskeimens der Zygoten und nicht zuletzt der Bestimmung der Erbcharaktere, bei denen es sich zum Teil um Ernährungs- und um Vitalitätsmutationen handelt, schuld, daß die Versuche nicht immer eindeutige Ergebnisse brachten.

Als günstiges Objekt für Tetradenanalysen erwies sich das Lebermoos *Sphaerocarpus Donnellii*, von dem Sporentetraden leicht in großer Zahl zu erhalten sind. Bei den von Knapp durchgeführten Versuchen über Fragen des Chromatidenaustausches, der Lokalisation des Centromers usw. sind Faktoren mit morphologisch gut charakterisierten Wirkungen beteiligt, deren Spaltung ebenso einfach untersucht werden kann wie bei höheren Pflanzen. Tetradenanalysen an phanerogamen Pflanzen wurden erstmals von Correns (1915) an *Epilobium* und *Salpiglossis* versucht. Sie wurden später von Kappert (1938) mit der Solanacee *Salpiglossis* wieder aufgenommen und mit Hilfe besonderer Bestäubungsmethoden mit Erfolg durchgeführt.

Ohne Kenntnis dieser bereits vorliegenden Versuche wies Papazian (1952) auf die Vorzüge von höheren Pflanzen für Tetradenanalysen und auf die besondere Eignung der Pollentetraden bildenden Ericaceen hin. Auch *Elodea canadensis* könnte für Tetradenanalysen in Betracht kommen, doch war bisher infolge der

ungenügenden Fertilität die Analyse größerer Zahlen von Tetraden nicht möglich (Ernst-Schwarzenbach 1951).

Die besten Bedingungen für die Durchführung aller mit Tetradenanalysen verbundenen Versuche bietet zweifellos *Salpiglossis* mit seinen großen, schon bei leichter Lupenvergrößerung sichtbaren Pollentetraden. Den Nachteil, daß die Früchte sich nur nach Bestäubung mit einer größeren Anzahl Tetraden entwickeln, hatte Kappert durch Füllbestäubungen mit Tetraden mit bestimmten Blütenfarbgenen als Markierungsgenen überwunden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, die von Kappert entwickelte Methode zur Tetradenanalyse von *Salpiglossis variabilis* so weit zu verbessern, daß die den Versuchsumfang zunächst stark begrenzenden Umstände entfielen, um eine erneute Untersuchung über das Vorkommen von Konversionen erfolgreich in Angriff nehmen zu können[1].

B. Die Voraussetzungen für die Durchführung von Tetradenversuchen bei *Salpiglossis*.

1. Die Erzeugung und Verwendung strahleninduzierter Chlorophyllmutanten für die „Füllbestäubungen“.

Nach der von Kappert (1933—1937) zur Tetradenanalyse bei *Salpiglossis* benutzten Methode werden die zu untersuchenden Tetraden auf die Narbe einer Pflanze mit bestimmten rezessiven Erbanlagen gebracht, für die der zu untersuchende Bastard die dominierenden Allele führt. Die Füllbestäubung erfolgt mit dem Pollen der Mutterpflanze, die eine größere Zahl von Individuen mit dem rezessiven mütterlichen Merkmal führt, von denen sich die Tetradennachkommen durch einen dominierenden Charakter unterscheiden. Da aber als Markierungsgene nur Blütenfarb- und -formgene zur Verfügung standen, waren zur Analyse einer einzelnen Tetrade alle aus einer Samenkapsel entstandenen Pflanzen bis zur Blüte zu kultivieren. Der damit verbundene Aufwand an Kulturfläche und Kulturarbeit erschwert es aber außerordentlich, Tetradenanalysen in großem Umfang durchzuführen. Ein Ausschalten der Mehrarbeit, die durch das Mitkultivieren der Füllbestäubungspflanzen entsteht, wurde auf zweierlei Weise versucht.

1. Durch Behandlung der mit nur einer Tetrade bestäubten Blüte mit Wuchsstoff „Tomafix“ *(Bayer)*, der unter anderem zur Erzeugung parthenokarper Tomaten mit Erfolg angewandt wird. Die Zahl der auf diese Weise erzielten Befruchtungen von Einzeltetraden war jedoch viel zu gering, um brauchbare Ergebnisse zu bringen (Kappert unveröffentlicht).

2. Durch das Aufsuchen von Merkmalen, die eine Unterscheidung der Tetradenabkömmlinge von den Nachkommen aus Füllbestäubungen schon im Keimlings- oder Jugendstadium ermöglichen, so daß nur Tetradennachkommen weiter kultiviert zu werden brauchten. Als geeignete Merkmale kamen zu diesem Zweck Blattfarben- oder Blattformcharaktere in Frage, die als Ergebnis von spontanen oder experimentell ausgelösten Mutationen gelegentlich zu erhalten sein mußten.

[1] Herrn Prof. Dr. Kappert bin ich sowohl für die mir überlassene Aufgabe als auch für sein hilfsbereites Interesse am Fortschreiten meiner Arbeit zu aufrichtigem Dank verpflichtet. Ebenfalls sehr dankbar bin ich Frl. Gerda Broese und allen anderen Institutsmitgliedern, die mir in technischer Hinsicht behilflich waren.

Zur Erzeugung derartiger Mutanten wurden im Frühjahr 1952 mit einer leistungsfähigen Röntgenapparatur Bestrahlungsversuche durchgeführt.

Die Samen von homozygotisch gelbblühenden Sippen, die den Zuchtlinien des hiesigen Instituts entstammten, wurden 12 Std auf Fließpapier vorgequollen und gelangten danach in Petrischalen zur Bestrahlung. Vorversuche hatten bereits ergeben, daß eine Dosis von 10000 r absolut letal wirkte, während bei 5000 r keine Schädigungen der aus den bestrahlten Samen hervorgehenden Sämlinge erkennbar waren. Infolgedessen wurden zur Mutationsauslösung neben einer unbestrahlten Kontrollserie 6 Serien gleicher Samenmengen mit 5000 bzw. 6000, 6500, 7000, 7500 und 8000 r bestrahlt, und zwar 380 r/min = 1000 r/2 min, 38 sec. Die bestrahlten Samen wurden in der üblichen Weise aufgezogen. 3—5 Blüten jeder Pflanze wurden geselbstet, da angenommen werden muß, daß die röntgeninduzierten rezessiven Mutationen in der Bestrahlungsgeneration (R_0) nur heterozygotisch vorhanden sind und erst nach Selbstung in der folgenden Generation (R_1) sichtbar werden. Ein durch Mutation entstandenes rezessives Merkmal ist dann im Verhältnis 1:3 normal zu erwarten. Fernerhin mußte damit gerechnet werden, daß mutierte Sämlinge die Mutationen nicht in allen Gewebepartien enthielten, sondern daß im Verlauf der Differenzierung der Organe Chimären mit mutierten und normalen Geweben entstehen würden. Es wurden infolgedessen jeweils mehrere Blüten geselbstet und die geernteten Samen nach Kapseln getrennt ausgesät und auf das Vorkommen von Chlorophyllmutanten hin untersucht.

Abb. 1. Chlorophylldefekte Mutanten (rechts) neben ihren normalen Geschwistern — von links nach rechts: Salpigl. St. 13, St. 11, Mutante 13 AX und 11 B.

Ein geeignet erscheinender Typ trat gleich im Frühjahr 1953 in der Aussaat der einzigen Samenkapsel einer aus einem bestrahlten Stamm erwachsenen Elternpflanze 11 B auf, die in 30 hell- und 93 dunkellaubige Keimpflanzen spaltete. Der neue Typ unterscheidet sich als Sämling aber nicht nur durch die helleren Keim- und Laubblätter, sondern auch durch ein langsameres Wachstum deutlich von den normalen Geschwistern. Diese schwächere Vitalität äußert sich auch darin, daß die Blüte mindestens 4 Wochen später einsetzt als die der normalen Pflanzen, und daß — wie 1953 und 1954 übereinstimmend beobachtet wurde — die Sämlinge besonders in den Sommermonaten in natürlichem Licht nicht leben können, sondern während der ersten Wochen unter künstlichem Licht kultiviert werden müssen.

Eine weitere chlorophylldefekte Mutante 13 AX wurde aus einer zweiten, im Juli 1952 durchgeführten kombinierten Colchicin- und Röntgenbehandlung[1] nach D'Amato und Gustafsson (1948) neben 2 albinotischen Mutanten gewonnen.

[1] Die Samen waren 24 Std in 0,1% Colchicinlösung gequollen, auf Fließpapier getrocknet und mit 7500 r bestrahlt worden.

Sie entstammte einer doppelt rezessiven, gelbblühenden, appendicaten Sippe und zeichnete sich durch hellgrüne Keim- und Laubblätter mit dunkelgrünen Adern aus. Ihre in der Längsrichtung nach unten gekrümmten Laubblätter erinnern an das Hahnentrittsymptom der Viruskrankheiten. Dadurch erscheinen besonders im Stadium der ersten Laubblätter die Sämlinge stark deformiert, sie entwickeln sich jedoch völlig ungestört und bilden mindestens 4 Wochen früher fertile Blüten als gleichaltrige normale Pflanzen, welche im Wuchs etwa die doppelte Höhe der Mutanten erreichen. Die kurze Entwicklungszeit von der Aussaat bis zur Blüte schwankt je nach Jahreszeit zwischen 8 und 16 Wochen, ihr zwerghafter Wuchs und damit verbunden ihre geringen Platzansprüche sowie ihr rezessiver Charakter in 3 Merkmalen („hellaubig", „gelbblühend" und „appendicat") lassen sie für Tetradenanalysen noch besser geeignet erscheinen als die hellaubige Mutante 11 B. Da die Kreuzungen der Mutanten 13 AX und 11 B in beiden Richtungen eine normale F_1 ergaben, sind offenbar 2 verschiedene Loci durch die Mutation verändert worden. Die F_2 zeigt dementsprechend eine dihybride Spaltung mit Ausfall der offenbar durch das Zusammenwirken zweier vitalitätsschwächender Faktoren letalen doppelt rezessiven Typen. Die beobachteten Zahlen waren 488 normal grün: 192 Typ 13 AX: 186 Typ 11 B statt 519,6:173,2:173,2. Die Differenzen sind nicht signifikant.

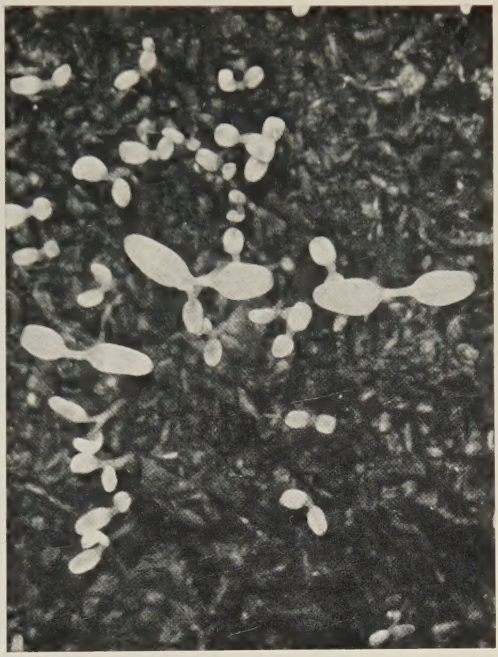


Abb. 2. Tetradennachkommen unter den Keimlingen aus der Füllbestäubung.

2. Die Beschleunigung der Generationsfolgen durch Kunstlichtkultur.

Ein unbedingter Nachteil der *Salpiglossis*-Tetradenversuche ist die relativ lange Vegetationszeit, die normalerweise nur die Anzucht einer einzigen Generation jährlich gestattet. Kulturversuche unter Kunstlicht-Osramleuchtröhren HNI — mit einer Beleuchtungsstärke von 1000—3000 Lux in Blütenhöhe — bei etwa 20° Raumtemperatur ließen aber Pflanzen aus einer Spätsommeraussaat ohne Schwierigkeit im Winter zur Samenreife kommen. Eine mehrwöchentliche Stockung trat allerdings im Winter 1953/54 ein, als Pflanzen im Knospenstadium bereits im Oktober unter die Beleuchtungsanlage gebracht wurden. Die vorhandenen Knospen welkten oder entwickelten kleistogame Blüten und erst die sich neu entwickelnden Knospen brachten normale Blüten mit Samenansatz. Die Möglichkeit, die Versuche auch während des Winters durchzuführen, machen die *Salpiglossis* aber zu einem für Tetradenversuche geradezu einladenden Objekt.

C. Das Material, die Technik und die Ergebnisse der Versuche.

1. Die untersuchten Merkmale und die Versuchsmethodik.

Gegenstand der Tetradenanalysen waren Blütenfarb- und Blütenformmerkmale, die von einer Serie multipler Allele bestimmt werden. Die Farballele *homogen — geflammt — gelb* bedingen die Verteilung bzw. das Fehlen von Anthozyan in der Blüte (Kappert 1938), in der *geflammt* rezessiv gegenüber *homogen* und *gelb* rezessiv gegenüber beiden ist. Die Serie multipler Allele des Blütenformmerkmals wird von Dale 1937 in folgender Dominanzreihe aufgestellt: *normal — extra lobed — appendaged — notched — cut*, doch ist eine absolute Dominanz hier nur von normal gegenüber den Allelen *appendaged*, *notched* und *cut* zu beobachten. Fast in allen übrigen Kreuzungsrichtungen sind die Bastarde intermediär oder modifiziert. Das von Dale ebenfalls beschriebene *appendaged-throut* (nicht identisch mit *appendaged*), welches in den vorliegenden Tetradenanalysen ausschließlich benutzt wurde, enthält im Schlunde der Corolla auf den beiden basalen Blütenlappen zusätzliche Blattanhängsel. Die Stellung dieses Allels in der multiplen Reihe wurde von Dale nicht angegeben, doch ist es rezessiv gegenüber *normal*. Da die im Schlunde befindlichen Blattläppchen von verschiedener Größe sein können und die Expressivität dieses Merkmals variabel ist, wurden jeweils mindestens 2 Blüten einer Pflanze bonitiert und so eine Unterscheidung von *appendicat* und *normal* mit Sicherheit erzielt.

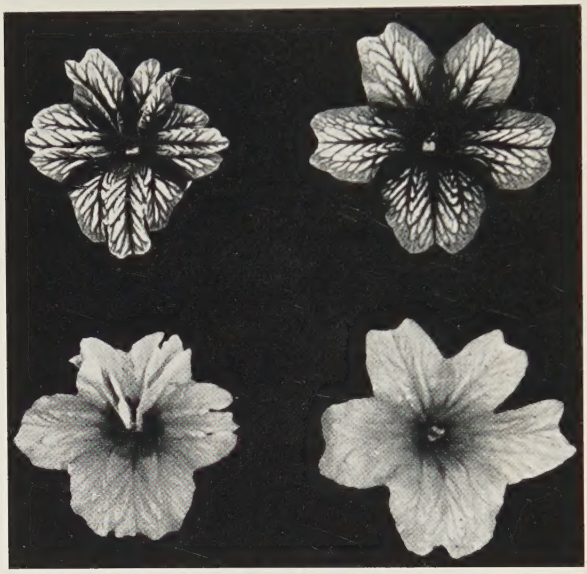


Abb. 3. Das „*appendicata*“ Merkmal (links) in Verbindung mit „*geflammt rot*“ und „*gelb*“.

Aus dem Auftreten konstant vererbender „*modified appendaged*“-Typen in der F_2 von Kreuzungen *cut* × *normal* und *cut* × *appendicat* wurde von Dale geschlossen, daß eine „Variation in Richtung auf *appendaged*“ vorhanden sei. Da solche Typen unter großen Zahlen von homozygotischen *cut*-Pflanzen niemals beobachtet wurden, könnte in diesem von Dale als „Variation“ bezeichneten Vorgang ein Hinweis für das Vorkommen von Konversionen gesehen werden, was die Serie multipler Allele des Blütenformmerkmals als für eine tetradenanalytische Prüfung der Konversionsfrage besonders geeignet erscheinen ließ. Die Voraussetzung, daß für eine Prüfung der Konversionshäufigkeit spontane Mutationen der betreffenden Gene in reinen Linien selten sein müssen, ist für die beiden Blütenformmerkmale voll erfüllt. Weder während der 3 Versuchsjahre, noch in den

zahlreichen früheren Versuchen des Institutes mit *Salpiglossis* wurden jemals Mutationen des *appendicat*-Locus zu *normal* beobachtet, und unter den zahlreichen Selbstungsnachkommenschaften von normal blühenden Pflanzen befanden sich niemals Individuen mit Blüten vom Typ „*appendicat*".

Für die Versuche wurde der reife Pollen eben aufplatzender Antheren einer in den genannten Charakteren doppelt heterozygoten Bastardpflanze vorsichtig auf eine schwarze Glasplatte verstreut. Unter einem Präpariermikroskop (Stereo-Mikroskop von Carl Zeiss) erfolgte bei 40facher Vergrößerung das Aufnehmen einer einzelnen unversehrten Tetrade mit einem Pferdehaar, während das Ablegen dieser Einzeltetrade auf die Mitte der reifen Narbe der mütterlichen Blüte mit einer Uhrmacherlupe (10fache Vergrößerung) kontrolliert wurde. Die Tetrade war im Augenblick mit Narbensekret durchtränkt. Anschließend wurde eine nicht abgezählte Menge von Tetraden der homozygot hellaubigen Mutterpflanze zur Füllbestäubung mit einer Pinzette aufgebracht und die Blüten durch Zubinden isoliert. Diese Bestäubungsmethode gewährleistete mit Sicherheit, daß tatsächlich nur eine einzige Tetrade des Bastards mit 4 normal ausgebildeten Pollenkörnern zur Bestäubung gelangte. Nur in den ersten Vorversuchen, in denen zur Erprobung einer möglichst schnellen Arbeitsweise die Aufnahme der Einzeltetrade noch nicht unter dem Präpariermikroskop, sondern unter einer Lupe bei 10facher Vergrößerung erfolgte, wurden in 2 Fällen versehentlich mehr als eine Bastardtetrade auf die Narbe gebracht, so daß in beiden Fällen die Aussaaten der Samenkapseln 5 statt der maximal zu erwartenden 4 dunkelgrünen Pflanzen brachten. Derartige Fehler konnten im Hauptversuch durch die Verwendung einer 4mal stärkeren Optik völlig ausgeschaltet werden.

Die Aussaat der aus der Winterbestäubung hervorgegangenen Kapseln, das Aufpikieren der dunkellaubigen Tetradenpflanzen und ihre Kultur bis zur Blüte erfolgten im Frühjahr 1954 unter Gewächshausbedingungen.

Zur Vergrößerung des Materials wurden weitere 500 Einzeltetradenbestäubungen vom 8.—15. Mai 1954 an Pflanzen, die im Gewächshaus bei natürlichem Licht standen, vorgenommen. Bereits am 10. Juni, also nach knapp 4 Wochen, war die Masse der daraus hervorgegangenen Samenkapseln geerntet worden. Mit der Aussaat konnte sofort begonnen werden, da eine Keimruhe der Samen sich bei *Salpiglossis variabilis* nicht bemerkbar macht. Am 7. Juli waren die letzten Tetradennachkommen pikiert und mit ihrer Versuchsnummer versehen worden, während gleichzeitig die ersten Tetradenpflanzen in 5,5 cm-Töpfe in Einheitserde gepflanzt wurden. Ohne ein weiteres Verpflanzen erfolgte die Aufstellung der kleinen Töpfe in einem Gewächshausblock in Grundbeeten. Die erste Blüte erschien am 9. August, die durchschnittliche Kulturdauer von der Aussaat bis zur Blüte betrug 10 Wochen. Ausfälle an Tetradennachkommen in der Zeit vom Pikieren bis zur Blüte entstanden durch Fäulnis der Vegetationspunkte in Perioden zu hoher Luftfeuchtigkeit. Sie betrugen für den im Winter bestäubten Satz 2,1%. Infolge der besonders kalten und nassen Witterung im Sommer 1954 kamen von dem im Mai bestäubten Satz nicht alle Tetradenpflanzen bis zum Abschluß der Versuche zur Blüte. Auch kleistogame Blüten traten im Sommer 1954 auf, deren Blütenfarb- und Blütenformmerkmale nicht bonitiert werden konnten.

2. Die Pollenfertilität und die Häufigkeit voll-, teilweise fertiler und vollsteriler Tetraden.

Wie auch von anderen bisher meist für Tetradenanalysen benutzten Versuchsobjekten, wie *Neurospora* (Lindegren und Lindegren 1937/39/42), *Chlamydomonas* (Lewin 1953) u. a. m. bekannt ist, werden je nach der Vitalität der Gonen vollständige Tetraden nur zu einem gewissen Prozentsatz ausgebildet. Bei *Salpiglossis* hängt die Zahl der Tetradennachkommen außer von der Pollenfertilität auch noch von der Entwicklungsfähigkeit der gebildeten Zygoten ab. Die Unterschiede in der Zahl der Tetradenpflanzen zwischen den in Tabelle 1 zusammengefaßten Versuchsserien beruhen aber sicher ganz vorwiegend auf der ungleichen Funktionstüchtigkeit der verwendeten Pollentetraden. (Die Signifikanz

Tabelle 1. *Übersicht über die Zahlen von vollständigen und unvollständigen Tetraden in den verschiedenen Versuchsserien.*

	Anzahl der Tetraden mit 4—3—2—1—0 Nachkommen					Zahl der ausgesäten Kapseln	Gesamtzahl der erhaltenen Tetradenpflanzen	Zu erwartende Pflanzenzahl bei vollständiger Funktionsfähigkeit aller Gonen und voller Keimung der Zygoten	Gesamtzahl der vorhandenen Tetradenpflanzen in % der maximal zu erwartenden
	4	3	2	1	0				
Serie I: Vorversuch Sommer 1953 ♀ Mutante 11B	2	11	10	7	19	49	68	196	34,6
Serie II: Winter 1953/54 ♀ Mutante 13AX	26	71	136	119	161	513	708	2052	34,5
Serie III: Frühjahr 1954 ♀ Mutante 13AX	33	96	126	107	69	431	779	1724	45,2
Ergebnisse von Kappert 1933—1937.	36	105	204	223	226	799	1090	3196	34,2

Anmerkung. Die Nachkommenschaften der Einzeltetraden konnten als solche in den Versuchen von Kappert erst mit beginnender Blüte der Pflanzen erkannt werden, in den eigenen Versuchen jedoch bereits als Sämling. Die von Kappert gefundenen 34,2% Pflanzen aus Einzeltetradenbestäubung (entsprechend 34,2% fertilen Pollen) würden sich noch um den Betrag an Pflanzen erhöhen, der während der Kultur verlorenging und die Blühreife nicht erreichte. In den eigenen Versuchen betrug dieser Anteil in der Serie II = 2,1%.

der Unterschiede zwischen Serie III und den übrigen ist augenscheinlich. Der P-Wert für eine nur zufällige Verschiedenheit von Serie II gegen III ist kleiner als 10^{-10}.) Auch innerhalb einer Serie ist die verschiedene Pollenfertilität der Tetradenlieferanten offensichtlich. Der Homogenitätstest der von 23 verschiedenen Vaterpflanzen erhaltenen Resultate schließt mit einem $P < 0{,}0005$ rein zufällige Schwankungen aus.

Die in den einzelnen Serien gefundenen Tetradennachkommenschaften mit 4, 3, 2, 1 und 0 Sämlingen und ihr Verhältnis zueinander deuten auch nicht auf eine zufallsgemäße Verteilung der tauglichen und untauglichen Pollen in den Tetraden. Einen Vergleich der gefundenen Zahlen mit den bei zufälliger Verteilung funktionstüchtiger und untüchtiger Pollen auf die einzelnen Tetraden zu erwartenden Nachkommen gestattet das Binom, das bei der Serie III mit durchschnittlich 45% tauglichen Pollen $(0{,}45 + 0{,}55)^4$ lauten würde, und dessen Auflösung das zufallsbedingte Verhältnis der Tetraden mit 4, 3, 2, 1 und 0 Nachkommen = 0,0410:0,2004:0,3675:0,2995:0.0915 angibt. Bei einer Gesamtzahl von 431 Tetraden wäre dann eine Verteilung von 17,7:86,4:158,4:129,1:39,4 statt 33:96:126:107:69 Tetraden mit 4, 3, 2, 1 und 0 Nachkommen zu erwarten gewesen. Die Differenzen +15,3, +9,6, —32,4, —22,1 und +29,6 sind bei einem $\chi^2 = 46{,}88$ und einem $P < 10^{-10}$ signifikant, woraus geschlossen werden muß, daß noch andere Einflüsse als eine zufallsgemäße Verteilung von fertilen und sterilen Pollen über die Entwicklung einer Zygote entscheiden, ein Schluß, zu dem auch Kappert (1939) auf Grund ähnlicher Ergebnisse seiner Tetradenversuche kam. Die nicht zufälligen Ursachen dieser Abweichungen sollen möglicherweise in

Teilungsstörungen der Meiosis bestehen, da gerade Tetraden mit 4 und mit 0 Nachkommen relativ zu häufig auftreten. Eine normal verlaufende meiotische Teilung würde aber eine Tetrade mit 4 fertilen Pollen erzeugen, eine in ihrem Verlauf gestörte Meiosis dagegen sehr oft lauter sterile. Nach den Untersuchungen von Oehlkers (1937, 1940) zur Physiologie der Meiosis sind Störungen bei den Reifeteilungen bereits durch veränderte Außenbedingungen, wie sie auch normalerweise auftreten, nicht selten.

Bei einer rein zufallsgemäßen Verteilung der fertilen und sterilen Pollen ist außerdem zu erwarten, daß die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der für die Konversionsanalyse allein brauchbaren Tetraden mit 4 und mit 3 Nachkommen in der Nachkommenschaft eines Pollenlieferanten um so größer wird, je mehr Einzeltetraden zur Verwendung kommen. Bei den Vaterpflanzen der Serie II besteht aber überhaupt keine Korrelation zwischen der Zahl der von den betreffenden Vätern entnommenen Tetraden und der anteiligen Zahl von Tetraden mit 4 und 3 Nachkommen ($r = -0{,}07$), und für die Väter der Serie III war sie trotz eines r von 0,54 nicht gesichert.

Die bis zur Blühreife weiter gezogenen Tetradennachkommenschaften der dihybriden Bastardväter und der doppelt rezessiven Mütter zeigten die erwarteten Verschiedenheiten der Zusammensetzung. Im Falle einer Präreduktion sollten unter 4 Pflanzen einer Tetrade jeweils 2 identisch sein, und entweder die elterlichen Typen mit *geflammt-normalen* und *gelb-appendicaten* oder die Neukombinationen *geflammt-appendicat* und *gelb-normal* repräsentieren.

3. Die Merkmalsspaltungen innerhalb der Nachkommenschaften der Einzeltetraden.

Bei einer freien Spaltung der Merkmale, wie sie bei den hier beschriebenen Faktoren vorhanden ist, werden diese beiden Möglichkeiten im Verhältnis 1:1 erwartet. Entsprechend der in Tetradenanalysen üblichen Nomenklatur werden die Tetraden, welche nur die elterlichen (parentalen) Genkombinationen aufweisen, als P-Typen, Tetraden mit nicht elterlichen Genkombinationen als NP-Typen bezeichnet.

Eine signifikante Abweichung vom 1:1-Verhältnis würde eine Koppelung der Merkmale anzeigen, doch sind für alle Untersuchungen der Merkmalskopplung aus statistischen Gründen Nachkommenschaften, die sich aus Tetraden zusammensetzen, weniger aufschlußreich, als die nicht in Tetraden zusammengefaßten Nachkommenschaften. Wie Perkins 1952 betont, können die Chromatiden einer Tetrade nicht als unabhängig voneinander spaltende Einheiten betrachtet werden, weil je 2 von ihnen identisch sind. Infolgedessen darf nicht mit den Freiheitsgraden der Zahl der Nachkommen, sondern es muß mit den Freiheitsgraden der Zahl der Tetraden gerechnet werden. Zur Erreichung desselben Sicherungsgrades für das Bestehen einer Kopplung bei einer Kopplungsanalyse sind daher mehr Einzelpflanzen notwendig, die aus Tetraden stammen, als wenn das Material aus „zufällig entnommenen Chromatiden", d. h. aus nicht in Tetraden zusammengefaßten Individuen besteht.

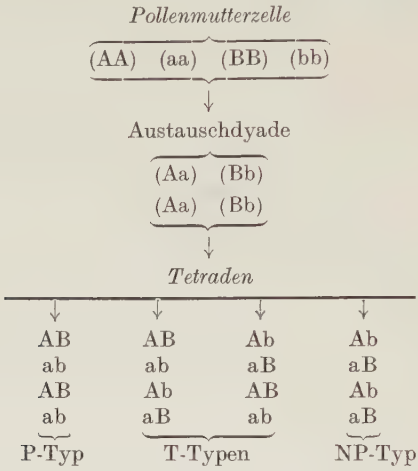
Bei Präreduktion des einen Locus und Postreduktion des anderen können Tetraden auftreten, in denen jeder der 4 Nachkömmlinge einen anderen Genotyp besitzt. Tetraden mit 4 genotypisch verschiedenen Nachkommen werden mit T (= Tetratyp) bezeichnet. Seine Entstehung bei freier Merkmalspaltung zeigt das Schema 1.

Pollenmutterzelle		Austauschdyade		Tetratyp
(AA) (aa) (BB) (bb)	→	(Aa) (BB) / (Aa) (bb)	→	AB/aB, Ab/ab

Schema 1. Schematische Darstellung der Entstehung von T-Typen bei freier Spaltung der Merkmale nach Spalthälftenaustausch in einem der beiden Bivalente.

Es ist dabei ohne Bedeutung, in welchem der beiden Bivalente ein Spalthälftenaustausch erfolgt, die zufallsgemäße Verteilung der Chromosomen beider Bivalente in der Reduktionsteilung und die anschließenden Äquationsteilungen ergeben nach einem Austausch immer eine Tetrade vom T-Typ[1].

Findet dagegen in jedem der beiden Bivalente ein Spalthälftenaustausch zwischen Centromer und Locus statt, dann enthält jede der gebildeten Dyaden sowohl die beiden Chromatiden mit den rezessiven als auch die Chromatiden mit den dominierenden Allelen. Durch die zufallsgemäße Verteilung der Chromatiden in der Anaphase II der Meiosis entstehen jedoch nur in 50% der Fälle Tetratypen; zu je 25% werden wieder P- und NP-Tetraden gebildet, wie das Schema 2 zeigt[2].



Schema 2. Schematische Darstellung der Entstehung von P-, T- und NP-Typen bei freier Spaltung und Chromatidenaustausch in beiden Chromosomen.

In Tabelle 2 sind alle Tetraden der Versuchsserien II und III in diese 3 Klassen -P-, NP- und T-Typen eingeteilt. Da nicht alle Tetradenpflanzen der Serie III bis zum Abschluß der Versuche zur Blüte kamen, stimmen die für diese Serie angegebenen Zahlen nicht mit denen in der Tabelle 1 überein. Solche Tetraden, die sich in dieses Klassifizierungsschema nicht einteilen lassen, sollen als „Konversionstetraden" gesondert besprochen werden. Die zur Abkürzung der Bezeichnung der Allele verwandten Buchstaben bedeuten: R = rotblühend (dominant), r = gelbblühend (rezessiv), N = normalblühend (dominant), n = appendicat (rezessiv).

[1] Tetratypen sind für eine Kopplungsanalyse untauglich, da sie sowohl bei freier Spaltung zweier Merkmale wie bei Koppelung auftreten können.

[2] Bei der Analyse von „geordneten" Tetraden kann das Auftreten eines Spalthälftenaustausches bereits bei Beobachtung nur eines Allelenpaares an der räumlichen Anordnung der Träger der dominierenden und der rezessiven Allele festgestellt werden, beispielsweise bei Ascosporen im Ascus. Wie jedoch aus den Tetradenanalysen mit *Neurospora crassa* bekannt ist (Lindegren 1942, Whitehouse 1942), können sich in Ausnahmefällen bei der Teilung der Dyaden die Tochterkerne im Ascus aneinander vorbeischieben und die normale Anordnung der Ascosporen verfälschen. Wie Whitehouse (1942) zeigte, ist die Korrektur dieses Vorgangs, der in der angelsächsischen Literatur als „passing" oder „overlapping" der Spindelfasern bezeichnet wird, in vielen Fällen recht kompliziert.

Tabelle 2. *Übersicht über die gefundenen und erwarteten Spaltungstypen unter den Nachkommen dihybridspaltender Einzeltetraden der Versuchsserien II und III.*

	Typen der Tetraden	Serie II (Winter-Bestäubung) Anzahl gefunden	Anzahl erwartet	m	D/m	Serie III (Sommer-Bestäubung) Anzahl gefunden	Anzahl erwartet	m	D/m
Tetraden mit 4 Nachkommen	1. $RN+RN+rn+rn$ = P	4	8,5	2,03	2,2	10	11	2,3	0,43
	2. $Rn+Rn+rN+rN$ NP	13	8,5	2,03	2,2	12	11	2,3	0,43
	3. $RN+Rn+rN+rn$ = T	4							
	Sa.:	21+1 Konversionstetr.				22+6 Konversionstetr.			
Tetraden mit 3 Nachkommen	1. $RN+RN+rn$ } = P	16	15	2,73	0,36	12	15	2,73	1,1
	2. $RN+rn+rn$ } = P	14	15	2,73	0,36	18	15	2,73	1,1
	1. $Rn+Rn+rN$ } = NP	20	16	2,83	1,41	14	16	2,83	0,71
	2. $Rn+rN+rN$ } = NP	12	16	2,83	1,41	18	16	2,83	0,71
	1. $RN+Rn+rN$ } = T	3	2,25	1,3	0,57	—	1,25	0,96	1,3
	2. $RN+Rn+rn$ } = T	2	2,25	1,3	0,19	—	1,25	0,96	1,3
	3. $RN+rN+rn$ } = T	2	2,25	1,3	0,19	2	1,25	0,96	0,78
	4. $Rn+rN+rn$ } = T	2	2,25	1,3	0,19	3	1,25	0,96	1,8
	Sa.:	71				67+2 Konversionstetr.			
Tetraden mit 2 Nachkommen	1. $RN+RN$ } = P	6	9,7	2,8	1,3	8	7,6	2,6	0,15
	2. $RN+rn$ } = P	41	38,8	3,7	0,64	33	30,4	3,2	0,83
	3. $rn+rn$ } = P	11	9,7	2,8	0,46	5	7,6	2,6	1,0
	1. $Rn+Rn$ } = NP	7	9,3	2,78	0,82	9	7	2,4	0,83
	2. $Rn+rN$ } = NP	39	37,2	3,5	0,1	34	28	3,02	1,9
	3. $rN+rN$ } = NP	10	9,3	2,78	0,25	9	7	2,4	0,83
	1. $rN+rn$ } = T	3	3	1,48	—	2	3,5	1,61	0,93
	2. $Rn+rn$ } = T	2	3	1,48	0,67	9	3,5	1,61	3,4
	3. $Rn+rN$ } = T								
	4. $RN+rn$ } = T								
	5. $RN+rN$ } = T	3	3	1,48	—		3,5	1,61	2,1
	6. $RN+Rn$ } = T	4	3	1,48	0,67	3	3,5	1,61	0,3
	Sa.:	126				112			
Tetraden mit nur 1 Nachkommen	1. RN	45	36	5,2	1,7	Tetraden mit nur 1 Nachkommen wurden in der Serie III nicht bis zur Blüte kultiviert			
	2. Rn	28	36	5,2	1,5				
	3. rN	37	36	5,2	0,19				
	4. rn	34	36	5,2	0,38				

Da sich sowohl „homogen-rot" als auch „geflammt-rot" dominant gegenüber gelb verhalten, werden die beiden Allele für die rote Ausfärbung der Blüten, welche je von einem Teil der Väter stammen, zur Vereinfachung der Symbolisierung hier nicht unterschieden.

Für die Tetraden mit unvollständigen Nachkommenschaften ergeben sich verschiedene Möglichkeiten ihrer Zusammensetzung, je nach dem, welche und wie viele der Genotypen verlorengehen. Liegt kein Vitalitätsunterschied der Gameten vor, sondern erfolgt der Verlust einer oder mehrerer der Gonen einer Tetrade unabhängig von dem betreffenden Genotyp lediglich zufallsgemäß, dann sind die verschiedenen Genotypenkombinationen solcher unvollständigen Tetraden mit bestimmter Häufigkeit zu erwarten. Diese wird in Tabelle 2 — umgerechnet auf die Gesamtzahlen — angeführt und weicht von der gefundenen Zahl bis auf eine Ausnahme nicht signifikant ab.

Aus einer Tetrade mit nur 2 Nachkommen können beispielsweise unter den 3 möglichen NP-Typen nach Kreuzung mit der doppelt rezessiven Mutter solche mit der Zusammensetzung *Rrnn* + *rrNn* doppelt so häufig auftreten wie Tetraden mit 2 identischen Nachkommen (*rrNn* + *rrNn* oder *Rrnn* + *Rrnn*), wie folgende Überlegung ergibt.

Die Zusammensetzung von Genotypen der ursprünglichen Tetrade sei: 1. *Rn*, 2. *Rn*, 3. *rN*, 4. *rN*. Werden davon zufallsgemäß 2 der Genotypen eliminiert, dann ergeben sich für die beiden noch vorhandenen folgende 6 Kombinationsmöglichkeiten:

1	2	2	3	3	4
1	3	2	4		
1	4				

Nur bei Eliminierung der Kombinationen 1 2 sowie 3 4 — also in 2 von 6 Fällen — bleiben 2 identische Genotypen erhalten, in $^4/_6$ der Fälle dagegen 2 nicht identische.

Für die Häufigkeit des Auftretens von Tetratypen ist eine Vorausberechnung nicht möglich, da Tetratypen nur dann entstehen können, wenn in einem oder in beiden der beiden Bivalente ein Spalthälftenaustausch zwischen dem Centromer und dem beobachteten Locus erfolgt. Je größer dieser Abstand ist, desto häufiger werden Chiasmen und damit Tetratypen gebildet. Infolgedessen ist die relative Zahl der Tetratypen ein Maß für die Summe der Austauschhäufigkeiten zwischen den beiden Loci und ihren Centromeren. Es muß jedoch bereits an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß die Zahl der Tetratypen durch Konversionen vermindert werden kann. Eine Tetrade mit den Genotypen

1. *RN*, 2. *Rn*, 3. *rn*, 4. *rn*

könnte durch Konversion aus einem Tetratyp mit den 4 Gonen

1. *RN*, 2. *Rn*, 3. *rN*, 4. *rn*

entstehen, wenn in 3. eine Konversion von *N* in *n* erfolgte. Sie könnte aber auch dadurch entstehen, daß in einem parentalen Typ mit den 4 Gonen

1. *RN*, 2. *RN*, 3. *rn*, 4. *rn*

in 2. *N* in *n* konvertierte. In beiden Fällen entsteht eine Konversionstetrade mit derselben Zusammensetzung von Genotypen, die jedoch keinen Aufschluß darüber gibt, ob sie aus einem P-Typ oder einem T-Typ entstanden ist. In der nun folgenden Ermittlung des Spalthälftenaustausches werden daher die Konversionstetraden nicht in die Rechnung miteinbezogen. Trotzdem dürfen die errechneten Austauschwerte nur mit Vorbehalt aufgenommen werden, denn bei einem häufigen Auftreten von Konversionen — besonders in Serie III — werden nicht nur Tetratypen nicht als solche erkannt, sondern es können unvermeidbar auch Konversionstetraden mit nur 3 Nachkommen fälschlich als Tetratypen klassifiziert werden.

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, beträgt in der Versuchsserie II die relative Zahl der Tetratypen unter den Tetraden mit unvollständiger Nachkommenschaft 4/21 = 19%. Unter den Tetraden mit 3 Nachkommen, deren Zusammensetzung auch auf den Genotyp des fehlenden 4. schließen läßt, wurden 9/71 = 12,7% T-Typen gefunden. Bei Zusammenfassung der Tetraden mit 4 und mit 3 Nachkommen ergibt sich eine mittlere Zahl von 13/92 = 14,1% T-Typen. Unter den 126 Tetraden mit nur 2 Nachkommen (Tabelle 2) können trotz der ausgefallenen Gonen 12 Tetraden als Tetratypen erkannt werden, da sie weder P- noch NP-Typen darstellen. Allerdings ist der nun erhaltene Wert von 12/126 = 9,5% um $^2/_6$ zu gering, da — wie aus der Tabelle 2 hervorgeht — bei einem zufallsgemäßen Verlust der Genotypen in $^2/_6$ der Fälle gerade die beiden Pflanzen erhalten bleiben, welche den Spalthälftenaustausch nicht erkennen lassen.

Diese werden fälschlich zu den P- und NP-Typen gerechnet und müßten hier zu signifikanten Abweichungen von den Erwartungswerten führen, wenn der Wert des Spalthälftenaustausches hoch ist. Wenn man nun die unter den Tetraden mit 2 Nachkommen gefundene Zahl von T-Typen um $^2/_6$ erhöht, dann ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit dem für die „Dreiertetraden" ermittelten Wert, = 12,7%. In der Versuchsserie II würde sich also die mittlere Zahl der Tetratypen auf etwas über 13% stellen. Die Hälfte dieses Wertes gibt den Spalthälftenaustausch bzw. die Summe der beiden Genabstände von ihren Centromeren an, die danach etwa 7% bzw. M.E. betragen würde.

In der Versuchsserie III sind die entsprechenden Werte geringer; unter den 22 vollständigen Tetraden befindet sich kein Tetratyp, unter den 67 Tetraden mit 3 Nachkommen nur 5 = 7,5%. Das Fehlen von T-Typen unter den 22 vollständigen Tetraden liegt im Rahmen des Zufalls, wenn man auch hier einen Erwartungswert von 7,5% zugrunde legt. Bei Zusammenfassung der Tetratypen aus den vollständigen und den Tetraden mit 3 Nachkommen wird ein Wert von 5/89 = 5,62% erhalten. Demgegenüber ist die unter den Tetraden mit 2 Nachkommen gefundene Häufigkeit der Tetratypen von 14 auf 112 = 12,5%, die in Wirklichkeit noch um $^2/_6$ höher anzunehmen ist, auffallend. Sehr wahrscheinlich kommt dieser unerwartet hohe Wert dadurch zustande, daß ein Teil der als Tetratypen bezeichneten unvollständigen Tetraden tatsächlich Konversionstetraden sind, beispielsweise vom Typ *Rrnn* + *rrnn*, die als solche infolge des Fehlens der beiden übrigen oder wenigstens eines weiteren Nachkommen der Tetrade nicht erkennbar sind. Bei der relativ hohen Zahl von Konversionstetraden, die in Serie III gefunden wurde, könnten solche Fehlklassifizierungen eine Ursache der hohen Zahl von Tetratypen unter den Tetraden mit nur 2 Nachkommen sein. Eine Gegenüberstellung der relativen Zahlen von Tetratypen in beiden Serien gibt die Tabelle 3.

Tabelle 3. *Übersicht über die in den Serien II und III gefundenen Zahlen von Tetratypen.*

	Zahl der ursprünglichen Tetratypen unter Tetraden mit					
	4 Nachkommen	3 Nachkommen	2 Nachkommen	2 Nachkommen korr. mit $+^2/_6$[1]	zusammengefaßt aus Tetraden mit 4 und 3 Nachkommen	Austauschhäufigkeit
Serie II	4/21 = 19%	9/71 = 12,7%	12/126 = 9,5%	16/126 = 12,7%	13/92 = 14,1%	etwa 7%
Serie III . . .	0/22 = 0%	5/67 = 7,46%	14/112 = 12,5%	18,7/112 = 16,7%	5/89 = 5,62%	etwa 3%

[1] Der Korrekturwert $+^2/_6$ wird im Text erläutert.

Werden die Zahlen von Tetratypen, die aus den vollständigen und den Tetraden mit 3 Nachkommen stammen, zusammengefaßt, so ergibt sich für die Serie II ein Verhältnis von 79 P + NP:13 T und für die Serie III ein Verhältnis von 84 P + NP:5 T. Die Differenz zwischen beiden Serien ist bei einem χ^2 von 3,56 und einem P > 0,05 bei nur einem Freiheitsgrad nicht gesichert.

Diejenigen der Tetraden mit 3 und 4 Nachkommen, die in einem der Faktoren Spaltungsverhältnisse von 3:1, 3:0 oder 1:3 zeigten, werden als

Konversionstetraden betrachtet. Sie wurden in den Versuchsserien II und III mit verschiedenen Häufigkeiten gefunden und hatten folgende Zusammensetzung von Genotypen:

In Serie II:	Nummer 325	*rrNn*		
	(Vater Nr. 19)	*rrnn*		
		Rrnn		
		Rrnn		
In Serie III:	Nummer 5	*Rrnn*	Nummer 100	*rrNn*
	(Vater Nr. 24)	*Rrnn*	(Vater Nr. 26)	*rrnn*
		rrnn		*Rrnn*
	Nummer 6	*Rrnn*		*Rrnn*
	(Vater Nr. 24)	*rrnn*	Nummer 123	*Rrnn*
		rrnn	(Vater Nr. 27)	*rrNn*
	Nummer 9	*Rrnn*		*rrnn*
	(Vater Nr. 24)	*Rrnn*		*Rrnn*
		rrnn	Nummer 126	*rrNn*
		rrNn	(Vater Nr. 27)	*RrNn*
	Nummer 13	*Rrnn*		*Rrnn*
	(Vater Nr. 24)	*rrNn*		*rrNn*
		rrnn	Nummer 135	*RrNn*
		Rrnn	(Vater Nr. 28)	*rrnn*
				rrnn
				Rrnn

Die Ursachen für das Auftreten solcher abweichenden Tetradenspaltungen sowie die Fragen, die sich hinsichtlich der Art der Abweichung ergeben, werden in der Diskussion der Ergebnisse besprochen.

Bei einem sehr häufigen Auftreten von Konversionen in vorwiegend einer Richtung wäre zu erwarten, daß die Gesamtzahlen der appendicat blühenden Pflanzen und der normal blühenden von dem normalen 1:1-Verhältnis abwichen. Die Auszählungen ergaben in Serie II ein Verhältnis von 358 normal zu 348 appendicat und in Serie III ein Verhältnis von 261 normal:282 appendicat. In beiden Fällen sind die Differenzen zu den Erwartungswerten nicht gesichert.

D. Diskussion der Ergebnisse.

1. Der Nachweis von Konversionen bei den Blütenform-Allelen von Salpiglossis.

Zum tetradenanalytischen Nachweis einer Konversion müssen alle anderen Vorgänge, die abweichende Tetradenspaltungen verursachen können, im Experiment ausgeschlossen werden. Dieser Ausschluß gelang – wie noch im einzelnen gezeigt werden soll – für die bei *Salpiglossis variabilis* beobachteten Merkmale besser als für die der bisher für Tetradenanalysen benutzten Versuchsobjekte. Infolgedessen wurden die in den Versuchen mit *Salpiglossis variabilis* gefundenen 9 Pollentetraden, welche die dominierenden und die rezessiven Allele des Blütenformmerkmals nicht in dem normalen 2:2-Verhältnis übertrugen, als Konversionstetraden betrachtet, wobei unter Konversion die Mutation eines Gens unter dem Einfluß seines entgegengesetzten Allels verstanden wird. Das Vorkommen solcher Konversionen ist in einzelnen Fällen bereits wahrscheinlich gemacht. In Versuchen von Renner (1937) mit *Oenothera* wurden z. B. somatische Mutationen bei heterozygotisch normalen Pflanzen beobachtet, welche *cruciata*-Sprosse entstehen ließen, die an homozygotisch normalen Pflanzen nie auftraten. Auch

der entgegengesetzte Vorgang, die Mutation des rezessiven *cruciata*-Allels in das Normalallel, welcher ebenfalls nur in Heterozygoten und nicht in Homozygoten auftrat, wurde durch Nachkommenschaftsprüfungen nachgewiesen. Diese von RENNER als Konversionen gedeuteten Vorgänge wurden jedoch von OEHLKERS auf Grund von Versuchen mit anderem Material anders gedeutet, und zwar soll es sich im *cruciata*-Fall um eine Reihe leicht mutierender multipler Allele mit unvollkommener Dominanz des Normalallels und mit spontanem Dominanzwechsel handeln. Daß auch die in den späteren Generationen stabilen Homozygoten, welche DALE 1937 aus den Kreuzungen bestimmter *Salpiglossis*-Sippen erhielt, durch Konversionsvorgänge erklärt werden können, wurde bereits bei der Besprechung der betreffenden Merkmale angeführt.

Ein Fall einer Mutationen induzierenden Wirkung eines Allels auf ein anderes liegt bei dem von LILIENFELD 1929 studierten Blattformfaktor bei *Malva parviflora* vor. Hier bedingt eine Reihe von multiplen Allelen den Grad der Ausbildung einer mehr oder weniger reduzierten Blattspreite, wobei das labile „*laciniata*"-Allel dazu neigt, mit zunehmendem Alter über mehrere instabile Zwischenstufen in Richtung auf das Normalallel zurückzumutieren. In Bastarden aber, die heterozygotisch das Normalallel sowie entweder das „*incisa*"- oder das bereits fast wieder stabile „*hypo-no*$_2$"-Allel enthalten, werden wieder Mutationen in Richtung auf das am stärksten instabile „*laciniata*" ausgelöst und die fortschreitende Stabilisierung degradiert. Wenn dieser von KAPPERT als „Reversion" bezeichnete Vorgang auch das Gegenteil einer Konversion darstellt, so ist beiden mutativen Veränderungen doch gemeinsam, daß sie lediglich in der Heterozygote durch Beeinflussung des einen Allels durch das andere zustande kommen.

Diese Wechselwirkungen der Allele in der Heterozygote, welche WINKLER als Konversionen bezeichnete und die als Mutationen aufzufassen wären, deren Richtung durch eines der beiden Allele bestimmt wird, sind also in einigen Fällen tatsächlich nachgewiesen. Zum tieferen Verständnis des Wesens von Konversionen und vor allem der Mechanik ihrer Wirkungen tragen Gedankengänge bei, die von SIRKS bereits 1929 entwickelt wurden. Da SIRKS in seinen Versuchen mit *Lamium* einige abweichende F_2-Spaltungen erhielt, die sich nach seiner Ansicht durch die Annahme von Polygenie nicht erklären ließen, wurde von ihm vermutet, daß von den Pflanzen der heterozygotischen F_1 neben den erwarteten auch Gameten mit einer völlig neuen Valenz der betreffenden Faktoren gebildet wurden. Nach den Vorstellungen von SIRKS sollen diese neu gebildeten Valenzen dadurch zustande kommen, daß die Allele bestimmter labiler Faktoren in der Lage sind, von dem Molekül des Partnerallels Atomgruppen zu übernehmen. Durch chemische Umbauten der Moleküle beider Allele könnte dann ein Austausch erfolgen, der von dem Auftreten von Chiasmen unabhängig ist.

Zu sehr ähnlichen Schlußfolgerungen kam 1949 LINDEGREN durch seine Tetradenanalysen bei *Saccharomyces*. Besonders gut studiert wurde hier das Verhalten des Allelenpaares p (rosa Kulturen, adeninabhängig, rezessiv) und P (weiße Kulturen, nicht adeninabhängig, dominant), für welche nur nach Kreuzung des p und des P führenden Stammes abweichende Tetradenspaltungen im Verhältnis 4:0 oder noch häufiger 3:1 beobachtet wurden. In Kontrollkreuzungen vom Typ $p \times p$ oder $P \times P$ kamen niemals Mutationen von einem der beiden Faktoren vor. LINDEGREN erklärt diese abweichenden Tetradenspaltungen durch

Konversionen und weist nach, daß die Adeninsynthese tatsächlich nur durch einen monogenen Faktor gesteuert wird und daher nicht Polygenie des betreffenden Merkmals die Ursache für das Auftreten irregulärer Tetraden sein kann. Den Vorgang der Konversion heterozygotischer Loci stellt sich der Verfasser als eine „Degradierung" oder „Reparierung" der Gene vor, in deren Verlauf durch Übernahme oder Abgabe von Gensubstanz ein regelrechter Dominanzwechsel erfolgen soll. Das dominierende Allel würde also durch Abgabe eines Teiles seiner Substanz zur rezessiven Wirkung herabsinken. Das entsprechende rezessive Allel, welches diesen Betrag an Gensubstanz von dem dominierenden übernahm, würde jedoch nicht in allen Fällen zu einer dominierenden Wirkung aufsteigen, weil bei alternativem Dominanzverhalten vermutlich Schwellenwerte der stofflichen Quantitäten eine Rolle spielen. Voraussetzung für diese Hypothese ist allerdings, daß die Allele eines Faktors, die sich qualitativ manifestieren, quantitative Unterschiede in ihrer stofflichen Zusammensetzung aufweisen. Im Verlauf der genetischen Experimente mit *Saccharomyces* wurde festgestellt, daß ein Teil der beobachteten Faktoren nur normale Tetradenspaltungen im Verhältnis 2:2 zeigten, während eine Reihe von anderen zu Konversionen neigten.

Aus neueren Arbeiten von Winge und Roberts muß jedoch geschlossen werden, daß *Saccharomyces cerevisiae* infolge einiger genetischer Besonderheiten ein für Konverionsanalysen ungeeignetes Objekt ist. Wie diese Autoren genetisch und zytologisch nachwiesen, können sich einzelne oder auch alle der 4 Ascosporenkerne gelegentlich nochmals teilen. Als Folge davon würden Asci mit mehr als 4 Kernen entstehen. Diese zusätzlichen Kerne können sich entweder mit den ursprünglichen zu zweikernigen Ascosporen vereinigen, oder sie können an die Stelle von ursprünglichen Kernen treten, wenn diese vorzeitig abstarben. Sowohl die Vereinigung eines zusätzlichen Kernes vom Typ A mit einem ursprünglichen vom Typ a als auch das Absterben eines der ursprünglichen Kerne vom Typ a und sein Ersatz durch einen zusätzlichen A-Kern in einem Ascus würden aber an Stelle einer 2:2-Spaltung eine 3:1-Spaltung der Allele zur Folge haben und den Vorgang einer Konversion vortäuschen. Diese Fähigkeit bestimmter Stämme von *Saccharomyces*, durch zusätzliche Mitosen zweikernige Ascosporen zu bilden, wurde von Winge und Roberts auch an dem Material von Lindegren nachgewiesen.

Für einige der Merkmale von *Saccharomyces*, wie beispielsweise die Galaktosefermentation, fanden Leupold und Hottinguer ebenfalls abweichende Tetradenspaltungen, die sie nicht durch Konversionen erklärten, sondern durch die Annahme einer komplementären Wirkung zweier dominierender Faktoren. Eine Tetrade vom Tetratyp mit den 4 Gonen 1. AB, 2. Ab, 3. aB, 4. ab, würde z. B. eine Merkmalsspaltung im Verhältnis 1:3 zeigen, wenn das Merkmal von der Kombination von A und B abhängig ist. Ebenso würden P-Typen im Verhältnis 2:2 und NP-Typen im Verhältnis 0:4 spalten. In anderen Fällen konnten die Verfasser abweichende Tetradenspaltungen auf Autotetraploidie der betreffenden Asci zurückführen. Durch die zufallsgemäße Verteilung der 8 Chromatiden eines tetraploiden, monohybriden Ascus auf die 4 Kerne in der 1. und 2. meiotischen Teilung entstanden neben normalen Tetradenspaltungen im Verhältnis 2:2 auch solche im Verhältnis 4:0 und 3:1.

Auch die von Wülker 1935 bei *Neurospora sitophila* gefundenen Ausnahmetetraden dürfen nicht als Konversionen betrachtet werden, da die Labilität des betreffenden Merkmals (es handelte sich um die Ausbildung oder Unterdrückung eines Luftmycels) nicht nur in der Heterozygote, sondern auch in der Haplophase beobachtet wurde.

Wie die bisher durchgeführten Konversionsversuche zeigen, schließen die Versuchsergebnisse nicht immer andere Möglichkeiten der Interpretation als die der Konversion aus, weil Polyploidie oder Polygenie oder allgemeine Labilität des betreffenden Merkmals Konversionen vortäuschen können. Auf diese 3 zuletzt genannten Ursachen sind jedoch die bei *Salpiglossis variabilis* gefundenen abweichenden Tetradenspaltungen nicht zurückzuführen, denn das Blütenformmerkmal spaltete nach Kreuzungen stets monofaktoriell und war im homozygotischen Zustand stabil. Im Falle von Tetraploidie einzelner Pollenmutterzellen hätten lediglich Tetradenspaltungen im Verhältnis 2:2, 3:1 oder 4:0 entstehen können, nicht aber im Verhältnis 1:3, wie sie vorwiegend gefunden wurden.

Die Tatsache, daß fast immer die Zahl der rezessiven Merkmalsträger unter den Nachkommen der Ausnahmetetraden vermehrt war, schließt Fehlklassifizierungen aus, da die Manifestierung des dominierenden Blütenformalleles sehr viel sicherer erfolgt als die des rezessiven. In den langjährigen Untersuchungen des Institutes für Vererbungs- und Züchtungsforschung wurde zwar beobachtet, daß gelegentlich die Blüten 1. Ordnung von erblich rezessiven Pflanzen den Typ des dominierenden Allels aufwiesen, aber niemals wurden Pflanzen vom dominierenden Typ des Blütenformfaktors gefunden, in deren Blüten sich das dominierende Allel nicht manifestierte.

Auch das Vorkommen von Polyembryonie wurde nicht beobachtet, wie Einzelkornaussaaten ergaben, und wie auch daraus erkennbar ist, daß von den aus den Saatschalen auspikierten dunkellaubigen Pflanzen niemals 2 unmittelbar nebeneinander standen. Damit entfällt eine weitere Fehlerquelle, da ja das Auftreten von Zwillingen bei gleichzeitigem Ausfall eines Teils einer Einzel-Tetradennachkommenschaft zu irreführenden Ergebnissen führen könnte.

Eine Erklärung der abweichenden Tetraden durch einen Dominanzwechsel bei Nn Heterozygoten läßt sich allerdings auch bei Salpiglossis nicht völlig ausschließen, nachdem im letzten Jahr unter den Tetradennachkommen auch zwei Pflanzen mit unvollständiger Penetranz des Normalallels nachgewiesen werden konnten. Diese Pflanzen hatten neben überwiegend normalen einzelne sehr schwach ausgeprägte appendicata Blüten, waren aber in allen ihren Teile nheterozygot in bezug auf das appendicata Allel. Die appendicata-Pflanzen der Konversionstetraden unterschieden sich von den Pflanzen mit unvollständiger Manifestation des Normalallels jedoch sehr wesentlich dadurch, daß *alle* ihre Blüten das appendicata Merkmal in ganz typischer Ausprägung zeigten, sodaß ihre Entstehung doch sehr viel wahrscheinlicher auf Konversionen als auf Dominanzwechsel zurückzuführen ist. Die endgültige Entscheidung müssen die Nachkommenschaftsprüfungen der Konversionstetraden bringen.

In den aufgeführten Fällen einer Konversion unter den insgesamt 50 vollständigen Tetraden handelt es sich stets um eine Abänderung des Locus der Blütenformallele in nur einer Chromatide. Für die beiden Konversionstetraden

unter den unvollständigen 69 Tetraden mit 3 Nachkommen in Serie III läßt sich jedoch nicht angeben, ob bei ihnen die Mutation nur in einer oder in beiden Chromatiden eines Chromosoms erfolgte, da sich nicht feststellen läßt, ob alle Gonen der vollständigen Tetrade dasselbe Allel enthielten und eine Konversion beider Chromatiden eines Chromosoms erfahren hatten, oder ob die Ausgangstetrade eine durch Mutation in nur einer Chromatide entstandene Konversionstetrade vom Typ A+A+A+a oder a+a+a+A war, von der die Träger der 3 identischen Allele erhalten blieben.

Im letzten Fall würde die Zahl der aus den Tetraden mit 3 Nachkommen ermittelten Konversionsfälle nur $^1/_4$ der tatsächlichen betragen, da der Nachweis nur dann möglich ist, wenn das einzige nicht mit den übrigen identische Allel verlorengeht. Die Chance, daß eines der 3 identischen Allele verlorengeht, ist aber 3mal so groß.

In den beiden Versuchsserien der eigenen Versuche wurden Konversionen lediglich für die Blütenformallele erhalten, während die Blütenfarballele völlig erwartungsgemäß spalteten. Da im Falle von Versuchsfehlern abweichende Tetradenspaltungen auch für das Blütenfarbmerkmal aufgetreten sein müßten, sei auf diesen Befund noch besonders hingewiesen. Die Ergebnisse und auch der Umstand, daß Konversionen der Blütenformallele von *n* in *N* nicht ebensohäufig sind wie Konversionen in entgegengesetzter Richtung, finden auch Parallelen in den Resultaten von Lindegren bei *Saccharomyces*.

Die Häufigkeit, mit der eine Konversion am *N*-Locus erfolgt, scheint vom Genotypus des benutzten Pollenlieferanten abhängig zu sein, da 4 von den 8 gefundenen Konversionstetraden der Serie III von demselben Elter stammen, während 11 weitere in den Versuch einbezogene Pflanzen zusammen nur 4 Konversionstetraden lieferten. Wieweit für die unterschiedlichen Ergebnisse der Serie II auch die anderen Kulturbedingungen von Einfluß gewesen sein können, läßt sich nicht beurteilen, da hier andere Tetradeneltern benutzt wurden. Immerhin ist die Konversion ein relativ seltenes Ereignis, durch das außerdem nicht alle Gene in gleicher Weise betroffen werden können. Dabei sind die zur Konversion fähigen Gene dazu keineswegs schon durch eine besondere Labilität prädestiniert, sie erhalten ihre Mutationsbereitschaft vielmehr erst durch die Gegenwart des entgegengesetzten Allels in der Heterozygote. Die Abänderung des betreffenden Locus erfolgt auch ganz vorwiegend in einer ganz bestimmten Richtung. Damit unterscheidet sich aber die experimentell nachgewiesene Konversion wesentlich von der von Winkler seinerzeit zur Erklärung der Austauschvorgänge postulierten, worauf schon Kappert 1938 auf Grund der Ergebnisse seiner Tetradenversuche hinwies.

2. *Die Häufigkeit des Spalthälftenaustausches.*

Neben den Konversionsvorgängen wurde in der vorliegenden Arbeit auch die Häufigkeit des Spalthälftenaustausches untersucht. Wie an schematischen Darstellungen gezeigt wurde, ist die Häufigkeit von Tetratypen im Verhältnis zu den P- und NP-Typen abhängig von der Häufigkeit eines Spalthälftenaustausches zwischen dem Centromer und dem Locus, der dadurch postreduziert wird. Die relative Zahl der Tetratypen wird also um so größer werden, je häufiger ein Chiasma auftritt und je größer die Strecke ist, auf der ein Austausch erfolgen

kann. Ist diese Chromosomenstrecke groß und werden viele Chiasmen gebildet, dann ist es für die Häufigkeit der Tetratypen bedeutungslos, ob die beiden untersuchten Faktoren eines Zweipunkteversuches auf demselben oder auf 2 verschiedenen Chromosomen lokalisert sind, weil sie unter diesen Bedingungen ohnehin frei spalten. Entscheidend allein ist das Verhältnis von Prä- und Postreduktion, für welches von MATHER 1935 und von LUDWIG 1937 unter der Voraussetzung unbegrenzten Spalthälftenaustausches Erwartungswerte berechnet wurden. Dabei kam MATHER unter der Voraussetzung einer unendlich großen Zahl von Chiasmen zu einem Wert von ungefähr 2/3, der aber mit Annäherung auch schon bei nur wenigen Chiasmen erreicht wird. Dieselbe Formel, in welcher MATHER die Häufigkeit der Postreduktion zur Zahl der Chiasmen in Beziehung setzt, wird von PAPAZIAN 1952 für dieHäufigkeit von Tetratypen in Abhängigkeit von der Chiasmenzahl angegeben, und eine mittlere Zahl von 2/3 für das Auftreten der T-Typen bei Abwesenheit von Chromatideninterferenz wird auch in den Arbeiten anderer Autoren wie WHITEHOUSE 1950, LEWIN 1953 u. a. m. als Erwartungswert zugrunde gelegt oder empirisch gefunden.

In den vorliegenden Versuchen mit *Salpiglossis* wurde dagegen eine sehr viel geringere relative Anzahl von Tetratypen als 2/3 beobachtet, in Serie II etwa 13% und in Serie III etwa 6%; die Differenz zwischen den Serien ist — wie bereits erwähnt — bei einem $P > 0{,}05$ nicht gesichert. Da eine Merkmalskopplung nicht vorliegt und daher die Austauschhäufigkeit als ein Maß für die Summe der Abstände beider Loci von ihren Centromeren gelten kann, sind entweder beide Loci nicht weit von ihrem Centromer entfernt oder einer der beiden Loci liegt in nächster Nähe des Centromers.

Dieser letztere Fall wäre für die Lokalisation von Centromeren sehr günstig, da dann in jedem Zweipunktversuch, der diesen Locus enthält, die relative Zahl der Tetratypen den Abstand des nicht am Centromer liegenden Locus zu seinem Centromer anzeigen würde. Mit einem Locus, der infolge seiner Nähe zum Centromer stets präreduziert wird, könnten die Abstände aller weiteren Loci zu ihren Centromeren ermittelt werden. In Fällen, in denen keiner der Loci dicht am Centromer liegt, wären dazu aber 3 nicht gekoppelte Gene erforderlich, wie aus den Berechnungsformeln hervorgeht, die von WHITEHOUSE 1950, LINDEGREN 1949 und PAPAZIAN 1952 unabhängig voneinander entwickelt wurden. Diese Regeln für die Lokalisation von Centromeren können allerdings nur unter der Voraussetzung gelten, daß die betreffenden Loci nicht zu Konversionen neigen, denn nach einer Konversion sind — wie bereits angeführt wurde — Tetratypen nicht mehr als solche zu erkennen.

3. Die Bedeutung der Pollenfertilität und die Möglichkeit ihrer Erhöhung.

Den Untersuchungen über die Pollenfertilität wurde im Verlauf der Arbeit besondere Beachtung geschenkt, weil bei *Salpiglossis variabilis* nur dann Tetradenanalysen mit Erfolg durchgeführt werden können, wenn aus den Bestäubungen genügend viele Tetraden mit 4 und mit 3 Nachkommen erhalten werden. Wie CORRENS 1924 an Mirabilis Jalapa feststellte, kamen in seinen Versuchssippen nur etwa 20% der Pollenkörner zur Befruchtung, denen 80% nichtbefruchtende gegenüberstanden. In Bestäubungsversuchen mit abgezählten Tetraden bei *Salpiglossis variabilis* stellte HIEMENZ 1954 einen mittleren Befruchtungseffekt von etwa 30% fest, einen Wert also, der annähernd auch in den Versuchen von KAPPERT mit *Salpiglossis* und in zweien der 3 Serien der eigenen Versuche gefunden wurde. Eine so geringe effektive Pollenfertilität von 1/3 und weniger ist demnach bei höheren Pflanzen vermutlich eine nicht selten auftretende

Erscheinung, welche sich besonders ungünstig bemerkbar macht, wenn vollständige Pollentetraden analysiert werden müssen. Das erheblich günstigere Verhältnis der Versuchsserie III, in welcher annähernd so viele taugliche wie untaugliche Pollen beobachtet wurden, läßt jedoch erkennen, daß durch optimale Kultur- und Wachstumsbedingungen der Bastardväter sowie der mütterlichen Pflanzen, welche während der Bestäubung im Mai gegeben waren, eine Steigerung der durchschnittlichen Pollenfertilität möglich ist. Eine weitere Erhöhung der Pollenfertilität ließe sich aber nachweislich auch durch Selektion von besonders gut fertilen Sippen erreichen, denn daß die in den Versuchen als Tetradenspender benutzten Väter sich hinsichtlich ihrer Leistung an tauglichen Pollen gesichert unterschieden, wurde durch den Homogenitätstest festgestellt. Derartige Bemühungen zur Steigerung der Fertilität bzw. der Keimkraft der Sporen gingen beispielsweise auch bei *Neurospora crassa* den Tetradenanalysen voraus (Lindegren, Beanfield, Barber 1939). Sie könnten die *Salpiglossis variabilis* durch eine nennenswerte Erhöhung des Anteils an vollständigen Tetraden sowie durch eine weitere Vereinfachung der Gonenanalyse durch Verwendung frühzeitig analysierbarer Merkmale zu einem tetradenanalytischen Versuchsobjekt werden lassen, das als höhere Pflanze einige Voraussetzungen sehr viel besser erfüllt als viele der bisher vorwiegend benutzten mikrobiologischen Objekte.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Allele zweier mendelnder, nicht gekoppelter Faktoren, welche die Blütenfarbe und die Blütenform von *Salpiglossis variabilis* bestimmen, wurden mit Hilfe von Tetradenanalysen hinsichtlich ihrer Neigung zu Konversionen untersucht. Dazu wurde die von Kappert 1938 zur Analyse von Pollentetraden von *Salpiglossis variabilis* entwickelte Methode durch Verwendung chlorophylldefekter Markierungsgene, die mit Hilfe von Röntgenstrahlen sowie mit einer kombinierten Colchicin + X-Strahlenbehandlung erzeugt wurden, verbessert.

2. Die Pollenfertilität der als Tetradenspender benutzten Väter schwankte zwischen Werten von etwa 30—50% und erwies sich sowohl von den Wachstumsbedingungen als auch vom Erbtypus der verschiedenen Vaterpflanzen abhängig.

3. Die Zahlen der in 2 Versuchsserien analysierten Tetraden betrugen: 50 vollständige Tetraden; 140 Tetraden mit 3 Nachkommen; 238 Tetraden mit 2 Nachkommen, die zur Untersuchung des Spalthälftenaustausches verwendet werden konnten. Die Analyse ergab in der Versuchsserie II: 14,1%, in Serie III: 5,62% Tetratypen, entsprechend einem Spalthälftenaustausch von etwa 7 bzw. 3%. Die Unterschiede zwischen beiden Serien sind aber nicht gesichert.

4. Unter den Tetraden mit 4 und 3 Nachkommen wurden insgesamt 9 Konversionstetraden nachgewiesen, deren Zusammensetzung auf eine Konversion eines Blütenformallels während des 2. Teilungsschrittes der Meiosis (bzw. eine Konversion, die nur eine Chromatide betraf) schließen ließ. Für die Allele der Blütenfarbe wurde keine Konversion festgestellt.

5. Von den 9 Konversionstetraden zeigten 8 eine Spaltung der Allele des Blütenformfaktors im Verhältnis 1 dominant : 3 rezessiv; nur eine spaltete im Verhältnis 3 dominant : 1 rezessiv.

6. Die in beiden zeitlich getrennten Versuchsserien beobachteten Unterschiede in der Zahl der Konversionstetraden sind vermutlich nicht nur durch die veränderten Wachstumsbedingungen, sondern auch durch Unterschiede im genetischen Milieu der Bastardväter bedingt.

Literatur.

CORRENS, C.: Über den Einfluß, welchen die Zahl der zur Bestäubung verwendeten Pollenkörner auf die Nachkommenschaft hat. Ber. dtsch. bot. Ges. **18**, 422 (1900). — Über den Unterschied zwischen tierischem und pflanzlichem Zwittertum. Biol. Zbl. **36**, 12 (1916). — DALE, E. E.: A Series of multiple allels especially affecting the corolla in *Salpiglossis*. Amer. J. Bot. **24**, 651 (1937). — D'AMATO, F., u. Å. GUSTAFSSON: The mutation process. Hereditas (Lund) **34**, 181 (1948). — DARLINGTON, C. D.: Chromosome atlas of cultivated plants. London: Allen & Unwin 1945. — ERNST-SCHWARZENBACH, M.: Die Ursachen der verminderten Fertilität von Elodea-Arten. Planta (Berl.) **39**, 542 (1951). — HARTE, C.: Das crossing-over bei Chlamydomonas. Biol. Zbl. **67**, 504 (1948). — HIEMENZ, G.: Untersuchungen an *Salpiglossis variabilis* über Gonenkonkurrenz und selektive Befruchtung und ihre Auswirkungen auf die Nachkommenschaft. Biol. Zbl. (im Druck). — KAPPERT, H.: Die genetische Analyse der Pollentetraden von *Salpiglossis variabilis*. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 255 (1938). — Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. Berlin u. Hamburg: Parey 1953. — KNAPP, E.: Zur Genetik von *Sphaerocarpus*. Ber. dtsch. bot. Ges. **54**, 58 (1936). — LEUPOLD, U., and H. HOTTINGUER: Some data on segregation in *Saccharomyces*. Heredity (Lond.) **8**, No 2 (1954). — LEWIN, R.: The Genetics of *Chlamydomonas Moewusii* GERLOFF. J. Genet. **51**, 543 (1953). — LILIENFELD, F. A.: Vererbungsversuche mit schlitzblättrigen Sippen von *Malva parviflora*. I. Die *laciniata*-Sippe. Bibl. genetica **13**, 214 (1929). — LINDEGREN, C. C.: Chromosome maps of *Saccharomyces*. Hereditas (Lund) Suppl. **1949**, 338. — LINDEGREN, C. C., BEANFIELD and BARBER: Increasing the fertility of *Neurospora* by selektive inbreeding. Bot. Gaz. **100**, 592 (1939). — LINDEGREN, C. C., and G. LINDEGREN: Non-random crossing-over in the second chromosome of *Neurospora crassa*. Genetics **24**, 1 (1937). — Non-random crossing-over in *Neurospora*. J. Hered. **28**, 105 (1937). — Locally specific patterns of chromatid and chromosome interference in *Neurospora*. Genetics **27**, 1 (1942). — LUDWIG, W.: Über die Häufigkeit von Prä- und Postreduktion. Z. Vererbungslehre **73**, 332 (1937). — MATHER, K.: Reductional and equational separation of chromosomes in bivalents and multivalents. J. Genet. **30**, 53 (1935). — MOEWUS, F.: Die Analyse von 42 erblichen Eigenschaften der *Chlamydomonas eugametos*-Gruppe. III. Die 10 Kopplungsgruppen. Z. Vererbungslehre **78**, 501 (1940). — OEHLKERS, F.: Neue Versuche über zytologisch-genetische Probleme (Physiologie der Meiosis). Biol. Zbl. **57**, 126 (1937). — Über die Erblichkeit des *cruciata*-Merkmals bei den Oenotheren; eine Erwiderung. Z. Vererbungslehre **75**, 277 (1938). — Meiosis und crossing-over. Biol. Zbl. **60**, 337 (1940). — PAPAZIAN, H.: The analysis of tetrad data. Genetics **37**, 175 (1952). — PASCHER: Über die Beziehungen der Reduktionsteilung zur MENDELschen Spaltung. Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 163 (1918). — PERKINS, D. D.: Linkage in tetrad analysis. Genetics **38**, 187. — RENNER, O.: Über *Oenothera atrovirens* SH. et BARTL. und somatische Konversion im Erbgang des *cruciata*-Merkmals der Oenotheren. Z. Vererbungslehre **74**, 91 (1937). — SIEBS, W.: Neue Beiträge zur Kenntnis der Erblichkeit des *cruciata*-Merkmals bei den Oenotheren. Z. Vererbungslehre **77** (1939). — SIRKS, M. J.: Multiple allelomorphs versus multiple factors. Proc. Internat. Congr. Plant Sci. **1**, 803 (1929). — WHITHOUSE, H. K. L.: Crossing-over in *Neurospora*. New Phytologist **41**, 23 (1942). — Mapping chromosome centromers by the analysis of unordered tetrads. 1950. — WINGE, Ö., u. C. ROBERTS: Causes of deviations from 2:2 segregations in the tetrads of monohybrid yeasts. C. r. Trav. Labor. Carlsberg, Sér. Physiol. **25**, 285 (1954). — WINKLER, H.: Die Konversion der Gene. Jena: Gustav Fischer 1930. — WÜLKER, H.: Untersuchungen über Tetradenaufspaltungen bei *Neurospora sitophila*. Z. Vererbungslehre **69**, 210 (1935).

Dr. R. REIMANN-PHILIPP, Berlin-Dahlem,
Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 87, S. 208—228 (1955).

Institute of Animal Genetics, Edinburgh.

ON A CASE OF QUANTITATIVE VARIATION ON EITHER SIDE OF THE WILD TYPE.

By

C. H. Waddington.

With 12 figures in the text.

(Eingegangen am 23. Juni 1955.)

Introduction.

One of the most striking features of developmental processes is their capacity for regulation and their ability to produce a relatively normal adult even when more or less abnormal events have occurred during the course of ontogeny. Embryologists who have concerned themselves with the theory of evolution (e. g. Waddington 1940, 1942, etc., Schmalhausen 1947) have pointed out that this regulative capacity must be a property of the interacting genes of the genotype and must have been produced by the action of natural selection. In recent studies both on natural evolution and on the artificial evolution which is involved in the breeding of domestic animals, there has been a tendency to emphasise the importance of continuous variation in quantitative characters. The genetic basis of such variation has been investigated for the most part on those characters which show the least evidence of the regulative nature of the developmental processes and which therefore exhibit a relatively wide range of variation in the diversified genetic and environmental circumstances of a natural population; for instance, such characters as the size and weight of many organisms, or their parts; the colour of the body in an animal such as *Peromyscus*; or the milk yield of a cow. Naturally occurring individuals can differ quite widely in such characters, and selection is usually effective; there is little immediate sign of any tendency for development to regulate towards any particular standard, such as the mean of the population.

The regulative character of development is, however, such a general phenomena that one is tempted to wonder whether something of a similar kind is not concealed within systems which exhibit variation. If one takes a freeliving population and, by selection for an extreme of some continuously-varying character, shifts the mean some distance from the naturally occurring value, then it is common to find that the fitness of the selected population has decreased, so that when the pressure of artificial selection is relaxed, natural selection will tend to draw the gene frequencies back to their original value. The process has been referred to as „genetic homeostasis" (Lerner 1954). In many cases it is not known whether the reduction in fitness is a direct reflection of the change in the mean of the character selected, or whether it is a consequence of some secondary effect correlated with the selected character. In so far as the first alternative is true—and on general grounds one might expect it always to have some degree of validity—there should be a natural selection which would favour the occurrence of developmental regulation, which would act so as to stabilise

the optimum mean phenotype. The tendency for developmental processes to lead to a definite and invariant end-point in spite of fluctuations which have affected them during the earlier stages in the life-history has been referred to as the "canalisation of development" (WADDINGTON 1942). From the argument given above, one might expect genetic homeostasis to be reinforced by developmental canalisation, and even continuously varying quantitative characters to have some developmental regulation towards the optimum.

Following this line of thought it seemed of interest to investigate the genetic control of some character which both exhibited quantitative variation and yet had a well-defined wild type. The character which has been studied is the quantity of vein in the region of the posterior cross-vein in the Drosophila wing. There is, of course, a definite wild type, in which the cross-vein extends fully between the fourth and fifth longitudinal veins. Variation in a negative sense is possible by the absence of larger or smaller parts of the posterior cross-vein. Variations also occur in a positive sense, in which extra portions of vein are attached to the cross-vein.

This system has another point of difference from most quantitative characters which have been investigated. The character "amount of cross-vein" can be assessed not merely quantitatively (i. e. by the measurement or estimation of the length of vein present assuming the cross-section to remain constant) but can be discriminated according to its spatial pattern. The normal amount of vein may occur in the from of the cross-vein as it is usually seen, or the same amount might be, and, as we shall see actually may be, present in the form of a shortened cross-vein with an extra piece added on to it on the side. In this system we can therefore relatively easily discover whether the character we are concerned with (total amount of cross-vein) is "causally homogeneous", or whether the same global end result may be produced by several different physiological processes.

Experimental Materials.

The studies to be described were concerned with four stocks; one with a high frequency of large extra cross-veins, one characterised mainly by small extra crossveins, one with small gaps in the cross-vein, and one with a large number of long gaps. Various crosses, backcrosses, etc. were made with these stocks, with the object of investigating how different dosages of strong and weak extra crossvein or crossveinless factors interact in producing the phenotype, and of comparing with one another the breeding behaviours of individuals of similar or different phenotypes descended from different crosses.

Throughout the investigation the extent of cross-vein present was estimated by eye. The animals were graded into four grades of absence of cross-vein (L. grades) and four grades of excess cross-vein (E. grades). The L_2 grade covered cases in which up to a quarter of the vein was missing; L_3, between a quarter and a half; L_4, between a half and three-quarters; L_5, between three-quarters and complete absence. The E grades, in which the abnormality increased from E_2 to E_5, covered a more or less similar range of excess.

The stocks showing absences (L stocks) and the stocks showing excesses (E stocks) originated separately. The L stocks were developed from one of the

crossveinless strains (Number cvl 26) obtained in an experiment on the genetic assimilation of crossveinless phenocopies (Waddington 1953). That is to say, they were produced by the selection of those individuals from a wild type stock which reacted most strongly to a heat treatment of the pupae which tended to produce a crossveinless phenotype. This selection eventually gave rise to strains in which crossveinless flies appeared without any necessity for temperature treatment of the pupae. After the cvl 26 strain had been produced in this way and propagated for some generations by mass matings, selection (still in mass matings) was made, firstly for individuals showing an L_2 grade of deficiency, and secondly for those showing an L_5 grade. This selection was carried on for seven generations, by which time the strains were markedly different in the frequencies of the different grades and further response to the selection had become rather slow, though some genetic variation was undoubtedly still left in both populations. The two strains thus produced were referred to as the L_2 and L_5 strains and were used in the first series of crosses. While these crosses were in progress, the strains were still carried on with selection for L_2 and L_5 grades, and by the time the second set of crosses was undertaken there had been some further consolidation of the L_2 and L_5 character of these parental strains.

The strains showing excess cross-veins (E strains) originated by straightforward selection from a wild Dublin stock in which excess pieces of cross-vein occurred spontaneously as rare aberrants. After some generations of selection had raised the frequency of these excess cross-veined types to a reasonable level, selection was started for E_2 and E_5 grades and again was carried on for seven generations before the first series of crosses was made, and for somewhat longer before the second set was started.

Results.

Crosses between L strains.

The frequencies of the various grades in the L_5 and L_2 strains and in the F_1 between them are shown in Fig. 1 and Table 1. It will be seen that in both stocks the males are somewhat less extreme than the females. The stronger expression of wing aberrations in females than in males is a general phenomenon in Drosophila to which attention has been drawn by Goldschmidt (1945). As we shall see, it is found also in the E stocks. To simplify matters the rest of this communication will deal almost entirely with the females only.

The F_1 between the two stocks is more or less intermediate between them. There is no difference in the distribution of either the males or the females according to the way the cross is made, which shows that as between these two stocks there are no important sex-linked differences affecting the character.

F_1 females (phenotypically grade L_3) were backcrossed to L_2 or L_5 males (exhibiting phenotypic grades L_2 or L_5 respectively). The resulting distributions are given in Fig. 2 and Table 1. It will be seen that the backcrosses to L_2 males are indistinguishable from pure L_2, but that in the backcrosses to L_5 males a considerable number of grade 5 phenotypes emerged. It would probably be possible to reduce this difference by a suitable change of scale, but it seems not unreasonable to accept the facts at their face value as indicating that an important part in a production of grade 5 phenotypes is played by genes which

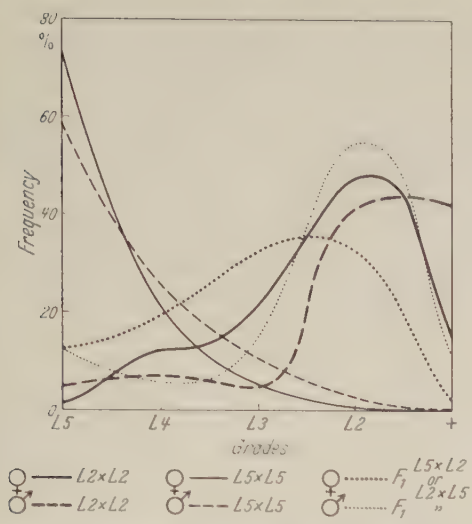


Fig. 1. Percentage of various grades in offspring of crosses within the L_3 and L_5 strains and in the F_1 (Table 1, 1—4).

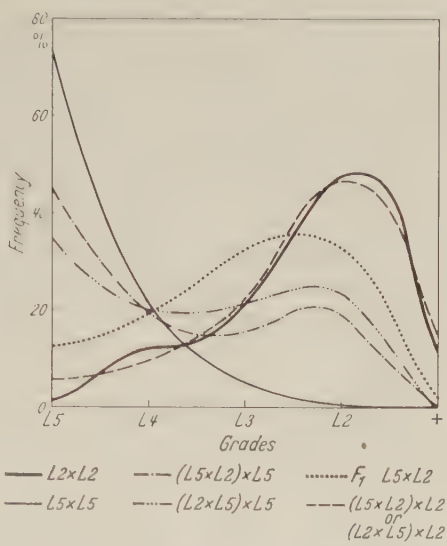


Fig. 2. Female offspring in L strains, F_1 and backcrosses (Table 1).

Table 1. (Figs. 1 and 2). *Crosses of L strains; 5 ♀♀ × 5 ♂♂. Percentage of grades in offspring.*

[In specifying matings, the female is always written first, e. g. $L_5 \times L_2 = L_5$ ♀ $\times L_2$ ♂. Animals enclosed in brackets are the parents of the individual used; e. g. $(L_5 \times L_2) \times L_5$ is a cross of an F_1 ♀, from L_5♀ $\times L_2$ ♂, with an L_5 ♂.]

	Mating	Phenotype of mates	Sex of offspring	L_5	L_4	L_3	L_2	+	Total	No. of Replicates
1	$L_2 \times L_2$	♀ L_2	♀	1.4	12.4	22.0	48.2	15.7	209	3
		♂ L_2	♂	4.4	7.0	4.8	41.4	42.3	227	
2	$L_5 \times L_5$	♀ L_5	♀	73.4	21.0	4.9	0.6	0.0	309	3
		♂ L_5	♂	58.6	25.8	12.8	2.9	0.0	345	
3	$L_5 \times L_2$	♀ L_5	♀	12.9	19.9	32.4	32.8	2.1	287	3
		♂ L_2	♂	13.6	5.2	13.5	53.8	13.9	252	
4	$L_2 \times L_5$	♀ L_2	♀	14.7	16.7	37.5	29.0	2.0	292	3
		♂ L_5	♂	11.4	6.5	16.6	55.4	10.1	307	
5	$(L_5 \times L_2) \times L_2$	♀ L_3								
		♂ L_2	♀	3.8	9.8	21.9	47.0	17.5	182	2
6	$(L_2 \times L_5) \times L_2$	♀ L_3	♀	7.4	10.1	22.5	45.9	14.2	218	2
		♂ L_2								
7	$(L_5 \times L_2) \times L_5$	♀ L_3	♀	44.8	19.7	15.8	19.2	0.5	202	2
		♂ L_5								
8	$(L_2 \times L_5) \times L_5$	♀ L_3	♀	34.7	20.2	21.4	23.8	0	248	2
		♂ L_5								

Difference betwen 7 and 8: no significant heterogeneity between replicates; X_2 for trend 4. 34 (1 d. f.) on the verge of significance.

act in a strictly recessive manner. We shall see in other crosses that grade 5 phenotypes only occur in large numbers in populations which have received genes from the L_5 strain through both their parents.

The apparent difference between the two backcrosses to L_5 is on the borderline of statistical significance, and can be neglected for our present purposes. (In all estimations of statistical significance, due attention has been paid to the heterogeneity between the replicates available.)

The distributions in the E_2 and E_5 strains and in the F_1 between them are shown in Fig. 3 and Table 2. Again it is noteworthy that in both strains the females are more extreme than the males. In the F_1 the distributions of males differ according to the way the cross was made, those with E_5 mothers being more extreme than those with E_2 mothers. This indicates that in these strains sex-linked differences play an important part.

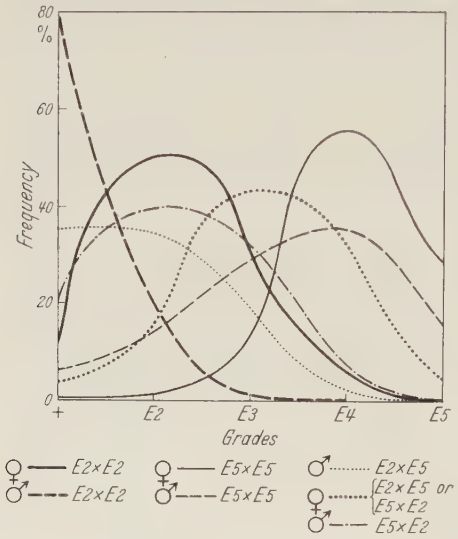


Fig. 3. Offspring of crosses within E strains and in the F_1 (Table 2, 1—4).

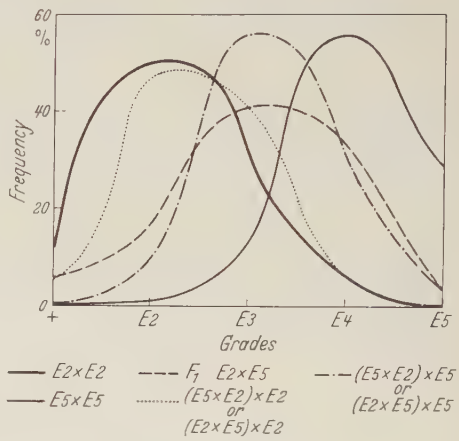


Fig. 4. Female offspring in E strains, F_1 and backcrosses (Table 2).

Table 2 (Figs. 3 and 4). *Crosses of E strains. 5 ♀♀ × 5 ♂♂. Percentage of grades in offspring.*

	Mating	Phenotypes of Mates	Sex of offspring	+	Grades E_2	E_3	E_4	E_5	Total	No. of Replicates
1	$E_2 \times E_2$	♀ E_2	♀	12.0	50.2	31.4	6.4	—	283	3
		♂ E_2	♂	79.0	20.0	1.0	0.0	—	315	
2	$E_5 \times E_5$	♀ E_5	♀	0.3	1.0	13.1	56.2	29.2	291	3
		♂ E_5	♂	6.1	13.9	28.9	35.4	15.6	294	
3	$E_5 \times E_2$	♀ E_5	♀	1.8	14.3	46.8	31.9	5.2	324	3
		♂ E_2	♂	20.6	39.7	32.2	7.5	0.0	267	
4	$E_2 \times E_5$	♀ E_2	♀	5.9	16.3	40.8	33.4	3.6	338	3
		♂ E_5	♂	44.4	34.3	19.1	2.2	0.0	324	
5	$(E_5 \times E_2) \times E_2$	♀ E_3 ♂ E_2	♀	4.1	52.0	35.1	7.4	1.4	148	2
6	$(E_2 \times E_5) \times E_2$	♀ E_3 ♂ E_2	♀	7.2	42.0	45.9	4.8	—	207	2
7	$(E_5 \times E_2) \times E_5$	♀ E_3 ♂ E_5	♀	1.2	8.6	54.6	33.1	2.5	163	2
8	$(E_2 \times E_5) \times E_5$	♀ E_3 ♂ E_5	♀	0.0	9.9	57.3	28.7	4.1	161	2

The backcrosses of the F_1 females (exhibiting grade E_3) on to E_2 and E_5 males (exhibiting those grades respectively) are shown in Fig. 4 and Table 2. In each case the backcross to E_2 is slightly more extreme than the original E_2 strain, exhibiting some influence of the E_5 factors. The backcross to E_5 is considerably less extreme than the pure E_5 but shows a unimodal distribution with no suggestion of recessive factors for the extreme phenotype, such as were seen in the L_5 backcrosses.

In these strains there is no suggestion of any difference in the backcrosses of the reciprocal F_1.

These crosses between the strains of the L and E stocks show a more or less normal type of behaviour, such as one might expect in any case of quantitative inheritance. It is worth noting, however, that there are differences in the general genetic system in the two stocks. In the L strains there seem to be no sex-linked factors, but recessive factors for extreme grades of expression, while in the E strains sex-linked factors are more important and there is no evidence of any such recessive genes.

Crossings between E and L strains.

Tables 3 and 4 show the grades of the F_1 males and females of crosses between the L and E strains.

The first point to notice is the existence of a class which is phenotypically both L_2 and E_2, that is to say, shows a break in the cross-vein combined with the addition of a piece of extra vein. The fact that such flies occur shows that the character "quantity of cross-vein" is not causally homogeneous. If all the factors affecting it acted similarly to increase or decrease the quantity of vein present, then the only possible phenotypes would be those either with gaps in the vein, with complete veins, or with complete veins plus additions, and there

Table 3. *Crosses between L and E stocks. Percentages of grades in male offspring.*

	Mating		L_4	L_3	L_2	+	L_2 and E_2	E_2	E_3	E_4	Total	No. of Replicates
1	$E_2 \times L_2$	F_1			1.1	96.9	0	2.0			352	3
		F_2			11.0	80.9	4.2	3.9			283	2
2	$L_2 \times E_2$	F_1			38.6	58.1	2.0	1.2			246	3
		F_2			10.5	80.6	3.8	5.1			237	2
3	$E_5 \times L_5$	F_1			2.1	83.4	0	14.5			338	3
		F_2		2.8	18.7	50.4	9.4	13.8	4.5		246	2
4	$L_5 \times E_5$	F_1			47.3	43.8	7.5	1.4			146	3
		F_2		2.6	16.9	51.1	14.7	12.0	2.6		264	2
5	$E_2 \times L_5$	F_1			2.2	96.4	0	1.4			258	3
		F_2	1.6	3.7	12.3	70.4	11.2	0.8			243	2
6	$L_5 \times E_2$	F_1			39.7	56.3	4.0	0			174	3
		F_2		1.7	10.0	71.2	10.8	2.9	3.3		240	2
7	$E_5 \times L_2$	F_1			0.3	77.5	0	22.2			383	3
		F_2			9.6	70.2	2.3	12.8	4.6		218	2
8	$L_2 \times E_5$	F_1			38.3	50.2	7.7	4.2			262	3
		F_2			6.3	68.8	8.0	13.1	3.8		237	2

Frequency of (L_2 and E_2) against separate L_2 and E_2: Combined X_2 F_1 ♂♂ 4·88 (1d. f.), X_2 F_1 ♀♀ 4·82 (1d. f.) see Table 4. X_2 F_1 ♂♂ + ♀♀ jointly 9·70 (1d. f.).

should be none of combined or LE type. On the other hand, if factors producing breaks in vein were completely independent and noninteractive with those producing additional vein, then the proportion of LEs should be the simple product of the Ls by the Es. If there was some degree of independence of the L and the E factors but also some degree of interaction, we might, other things being equal, expect to find a proportion of LEs which was somewhat lower than the product of the two separate classes. When the actual figures are examined, however, we find that there is a significant excess of LE phenotypes over the expectation on the basis of the independence of the L and E factors. This is probably to be explained in terms of the canalisation of the wild type. As we shall see, genotypes containing a considerable dosage of L factors may be wild type in phenotype; so are genotypes containing a considerable dosage of E factors. The phenomenon now under discussion, however, suggests that when a just sub-threshold dosage of L factors is combined with a just subthreshold dosage of E factors the regulation of the developmental processes breaks down and both factors come to expression.

Examination of the numbers in the L_2 and E_2 classes in the F_1 reveals a number of points. In the males the number of E_5 in crosses with E_5 mothers (3 and 7), compared to those in the crosses with E_2 fathers (4 and 8), show the importance of sex-linked factors in increasing E, which we noted in the crosses within the E strains. A comparison of the L according to their mothers again reveals little influence of sex-linked factors tending towards L. A comparison of the number of L according to the presence or absence of the E sex-linked factors shows that these factors certainly have an influence on the production of L phenotypes, tending strongly to suppress it (compare 4 with 3, 6 with 5, 2 with 1, 8 with 7). There is also some evidence that the strong L factors of L_5 tend to suppress the expression of E (e. g. compare the E of 7 with 3). The same points appear in the rather less extensive set of F_1 produced in the second set of crosses (p. 218).

Turning to the females there is again evidence, though not always so cleas cut, for effects of L factors in suppressing E phenotypes and vice versa. Thus comparison of the E in crosses 7 and 3 shows that in the first set of crosses, and more strongly in the second set (Table 7, crosses 2 and 4), L_5 tends to reduce the frequency of this class. In the first set of crosses there is little evidence that E_5 factors tend to reduce the number of L. In fact the comparison of 8 with 2 and 4 with 6 in the first set reveals a rather surprising tendency for the L to be more numerous in crosses involving E_5 than in those involving E_2. This is somewhat anomolous. However, in the second set of crosses, which were made with L and E stocks which had been further selected and purified, the comparison of the crosses 1 and 3 shows the E factors tending, as might be expected, to suppress the number of L appearing.

The F_2 do not seem to call for any particular remark except to point out that the failure to recover the extreme phenotypes would seem to indicate that the number of factors involved is not very small.

Males from the F_1 between L_5 and E_2 and between L_2 and E_5 were crossed to females from the original L_5 and E_5 strains. The females showed the phenotype of the strain to which they belonged, while all the males were wild type in

Table 4. *Crosses between L and E stocks. Percentages of grades in female offspring.*

	Mating		L_4	L_3	L_2	+	L_2 and E_2	E_2	E_3	E_4	Total	No. of Replicates
1	$E_2 \times L_2$	F_1			6.0	89.0	0.8	4.2			380	3
		F_2			11.0	72.6	1.4	26.0			277	2
2	$L_2 \times E_2$	F_1			7.4	86.8	0.4	5.5			272	3
		F_2			19.0	61.5	7.0	12.5			300	2
3	$E_5 \times L_5$	F_1			20.1	47.3	11.4	21.3			334	3
		F_2		2.2	15.8	27.3	23.0	23.5	8.2		214	2
4	$L_5 \times E_5$	F_1			17.2	61.6	6.6	14.6			151	3
		F_2		1.4	8.4	32.7	14.5	31.3	11.7		184	2
5	$E_5 \times L_5$	F_1			22.2	71.6	2.9	3.3			306	3
		F_2		0.8	10.2	66.7	18.8	3.5			255	2
6	$L_5 \times E_2$	F_1			8.6	84.9	1.6	4.8			186	3
		F_2		0.5	24.4	46.1	16.1	9.3	3.1		193	2
7	$E_5 \times L_2$	F_1			3.5	64.0	3.0	29.4			367	3
		F_2			—	61.2	0.5	26.0	11.9		219	2
8	$L_2 \times E_5$	F_1			9.2	58.3	1.8	30.6			271	3
		F_2			17.5	45.1	13.1	20.9	3.4		206	2

phenotype. The results are shown in Table 5 and Figs. 5 and 6. The latter have been drawn on the assumption that the character one is most interested in is the total quantity of vein present. Thus the class showing both E_2 and L_2 has been added to the number of wild types and the distribution curves drawn through the points representing the sums of these two classes. The percentage of individuals combining L_2 and E_2 is, however, indicated by the vertical lines dropping from the distribution curves at the position of the wild type class.

The first point to notice is that the maleparents of different kinds, although similar in appearance, are clearly genotypically very different from one another

Comparing the different crosses, one notices in the first place that those in which the male had an E_5 mother show the lowest grade of the L character when crossed to the L_5, and the highest grade of the E character when crossed to E_5. This is evidence again of the powerful sex-linked factors in E_5 and confirms their effect in suppressing L phenotypes. In the crosses with L_5, even the males with E_2 mothers give a progeny of rather low L grade, suggesting that E_2 also contains fairly powerful sex-linked genes. It is probably to these that one can attribute the absence in this progeny of any individuals of the L_5 genotype. These, which the earlier evidence suggested are dependent on fully recessive factors, occur as might be expected in the cross involving the $L_5 \times E_2$ male. It will be seen that this cross is considerably more extreme than that involving the $L_2 \times E_5$ male, but the data do not suffice to decide how far this difference is due to the greater potency of L_5 rather than L_2 factors in producing veinlessness, or to the greater efficiency of the E_5 as compared with the E_2 in supressing it. Similarly in the backcrosses to E_5, the $L_2 \times E_5$ male gives more extreme offspring than the $L_5 \times E_2$, and the $E_5 \times L_2$ male more extreme than the $E_2 \times L_5$. Again one cannot decide whether these differences are to be attributed to the L factors or to the E factors or to both.

Another series of test crosses were made using not only wild type F_1 males but also their brothers showing L_2 or E_2 phenotypes. These crosses were made with flies taken from later generations of the foundation stocks than those and in Table 5, and are therefore not strictly comparable with the latter. Figs. 7 and 8 show the distribution of offspring in families in which one can compare the genetic behaviour of wild type males and their brother L_2 (see Table 6). If one compares crosses in which males were of the same parentage, it will be seen that those with the L_2 phenotype always give families with a greater tendency towards L, or a lesser tendency towards E, than do their wild type brothers. Thus the difference in phenotype reflects a real difference in the underlying genetic constitution. If one compares males of different breeding, it becomes obvious that not only may two males both of wild type appearance differ considerably

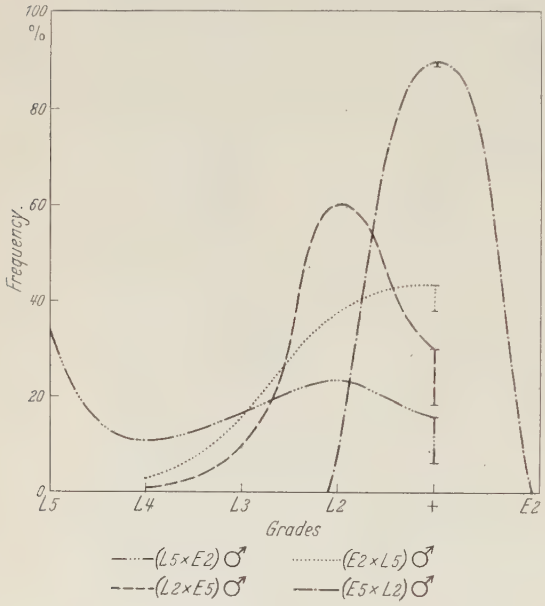


Fig. 5.

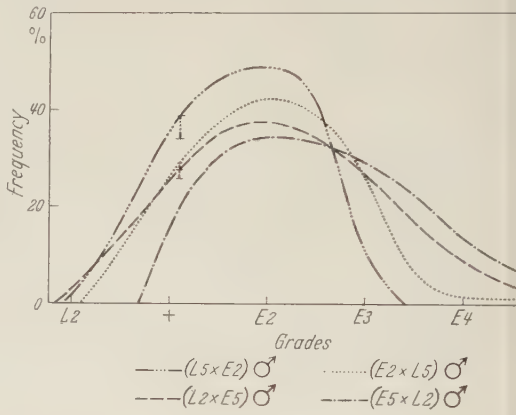


Fig. 6.

Fig. 5. Female offspring from crosses of hybrid males to L_5 females (Table 5, 1—4). In the wild type class, the curves have been drawn to the point representing the sum of the frequencies of the + and the (L_2 and E_2) flies: the number of the (L_2 and E_2) individuals is indicated by the vertical lines dropping from the curve. This convention is also used in the later figures.

Fig. 6. Female offspring from crosses of hybrid males to E_5 females. (Table 5, 5—8)

Table 5 (Figs. 5 and 6). *Crosses of F_1 ♂♂ to L_5 and E_5 ♀♀ (1 ♂:5 ♀♀). Percentages of grades in female offspring.*

	Mating	L_5	L_4	L_3	L_2	+	L_2 and E_2	E_2	E_3	E_4	E_5	Total	No. of Replicates
1	$L_5 \times (L_2 \times E_5)$		0.6	9.4	40.0	18.2	11.8					170	2
2	$L_5 \times (L_5 \times E_2)$	33.7	10.7	16.3	23.6	6.2	9.6					179	2
3	$L_5 \times (E_2 \times L_5)$		3.0	15.7	38.0	38.0	5.4					166	2
4	$L_5 \times (E_5 \times L_2)$				9.5	88.5	0.8	1.2				253	2
5	$E_5 \times (L_2 \times E_5)$					25.9	1.5	37.6	26.4	8.6		197	2
6	$E_5 \times (L_5 \times E_2)$				1.9	34.0	4.7	48.6	10.8			212	2
7	$E_5 \times (E_2 \times L_5)$					27.7	1.2	42.2	28.0	1.4	1.2	173	2
8	$E_5 \times (E_5 \times L_2)$					19.4		34.2	29.1	13.3	4.1	196	2

All matings significantly different.

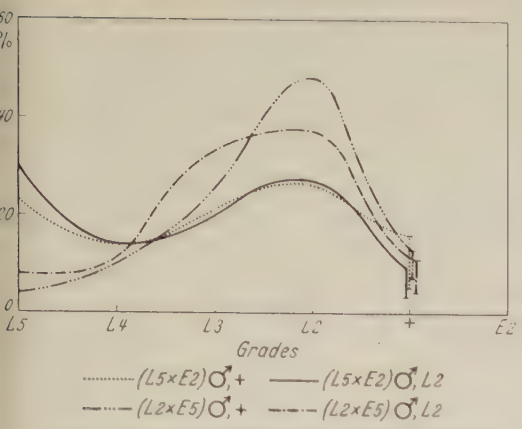


Fig. 7. Female offspring from crosses of hybrid males, of phenotype + or L_2, to L_5 females (Table 6, 1—4).

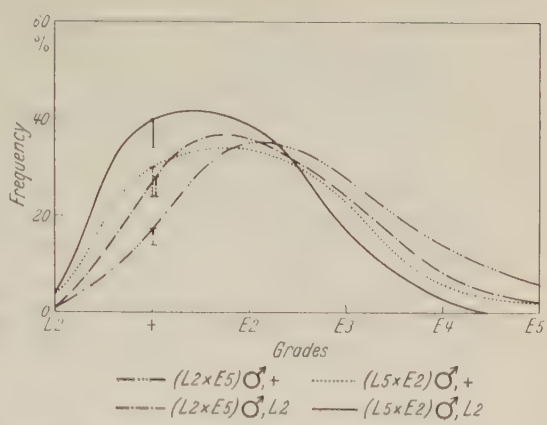


Fig. 8. Female offspring from crosses of hybrid males, of phenotype + or L_2, to E_5 females (Table 6, 5—6).

Table 6 (Figs. 7 and 8). *Crosses of F_1 ♂♂ of different phenotypes to L_5 and E_5. Percentage of grades in female offspring.*

	Mating	Phenotype of ♂	L_5	L_4	L_3	L_2	+	L_2 and E_2	E_2	E_3	E_4	E_5	Total	No. of Replicates
1	$L_5 \times (L_5 \times E_2)$	+	23	14	21	26	5	11					523	5
2	$L_5 \times (L_2 \times E_5)$	+	4	10	25	48	7	6					483	5
3	$L_5 \times (L_5 \times E_2)$	L_2	30	14	21	27	3	6					407	5
4	$L_5 \times (L_2 \times E_5)$	L_2	8	11	33	37	4	7					443	5
5	$E_5 \times (L_5 \times E_2)$	+				4	24	6	34	23	6	2	449	5
6	$E_5 \times (L_2 \times E_5)$	+					14	3	35	28	14	6	302	5
7	$E_5 \times (L_5 \times E_2)$	L_2				4	34	6	39	17			467	5
8	$E_5 \times (L_2 \times E_2)$	L_2				1	24	4	36	24	8	2	524	5

In comparing the progenies of various crosses ,there are two alternative methods of dealing with the class of individuals which show both L and E phenotypes simultaneously. We may take account of (1) the total quantity of crossvein present, in which case the "L_2 and E_2" class is to be added to the wild type; or (2) the degree of expression of one of the two abnormal phenotypes, in which case the "L_2 and E_2" class is to be added either to L_2 or to E_2 according to whether it is the L phenotype or E phenotype which is being considered.

Comparisons in Table 6, Values of X_2 (1d. f.).

	L_2 and E_2 added to L_2	L_2 and E_2 added to +
Families 1 and 3	8·18	9·02
Families 1 and 4	16·05	12·92
Families 5 and 7		28·0
Families 6 and 8		32·8

in their genotype, but that two males of L_2 appearance may differ in a similar way. Thus except among sibs of similar breeding, the phenotype is not an adequate guide to the genotype.

Second set of crosses.

By the time the data on the above crosses were analysed it was too late to carry out any further breeding with those particular stocks. A new set of crosses was therefore set up to elucidate certain particular points which had emerged. In the first place confirmation was sought for the reality of the effectiveness

of E factors in suppressing L phenotypes and vice versa. The second aim was to gather more data on the range of genetic variation which might be concealed within a wild type phenotype and to compare this with the genetic situation in animals whose phenotype was abnormal.

By the time these crosses were started the foundation stocks had been subjected to several more generations of selection. The L_5 and E_5 stocks had become somewhat more extreme than they had been at the time of the earlier crosses, and must have contained a higher "potency" of L and E factors. As will be seen from Table 7 the genetic behaviour of the stocks was, apart from this increase in potency, very similar to that found in the earlier set of experiments. The first point of general interest emerges from experiments in which wild type males, either from the $L_5 \times E_2$, or from the $L_5 \times E_5$ F_1, were crossed to L_5 females. The distribution of offspring is shown in Fig. 9 and Table 7. There is a significant difference between the two backcrosses. This seems to be conclusive evidence that the E factors act to some extent at least antagonistically to the development of L phenotype, and that the factors derived from E_5 are more potent in this respect than those from E_2. Similarly, wild type males from the $E_5 \times L_2$ F_1 and the $E_5 \times L_5$ F_1 were crossed to E_5 females (Fig. 10). Again the evidence is clear that the L factors act to suppress the E phenotype and that L_5 is more effective in this respect than L_2. It is clear, then, that although the L and E factors act

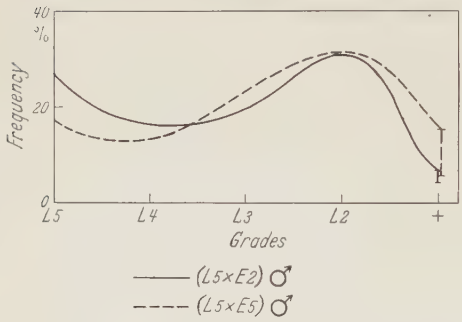


Fig. 9. Female offspring of crosses of hybrid males to L_5 females (Table 7, 5 and 6).

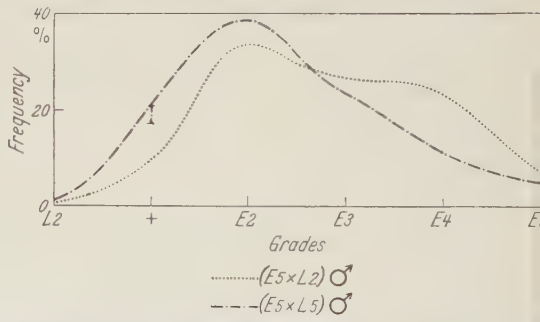


Fig. 10. Female offspring of crosses of hybrid males to E_5 females (Table 7, 7 and 8).

Table 7 (Figs. 9 and 10). *Second series of crosses (5 ♀♀ × 5 ♂♂ in 1 to 4), (5 ♀♀ × 1 ♂ in 5 to 8). Percentage of grades in female offspring.*

	Mating	L_5	L_4	L_3	L_2	+	L_2 and E_2	E_2	E_3	E_4	E_5	Total	No. of Replicates
1	$L_5 \times E_2$				19.7	72.5	3.2	4.5				462	5
2	$E_5 \times L_2$				1.4	54.0	3.1	38.3	3.3			517	5
3	$L_5 \times E_5$			0.2	7.1	64.4	7.8	20.2				510	5
4	$E_5 \times L_5$				12.4	62.7	9.3	15.6				429	5
5	$L_5 \times (L_5 \times E_2)$	26.7	16.3	19.8	30.7	4.2	2.2					424	5
6	$L_5 \times (L_5 \times E_5)$	17.2	13.0	23.5	31.6	5.6	9.6					410	5
7	$E_5 \times (E_5 \times L_2)$					9.7	0.2	33.9	26.4	23.1	6.8	516	5
8	$E_5 \times (E_5 \times L_5)$				1.2	17.3	3.2	38.5	23.6	11.1	5.0	496	5

Difference between 5 and 6 is significant at 2·5% level either if (L_2 and E_2) is counted as L_2 or if it is counted as +.

Difference between 7 and 8 is significant at 1% level either if (L_2 and E_2) is counted as E_2 or if it is counted as +.

to a certain extent independently, so that phenotypes combining L_2 and E_2 may appear, nevertheless that is not the whole story and they also interact with one another, L factors tending to supress a development of E phenotypes and vice versa.

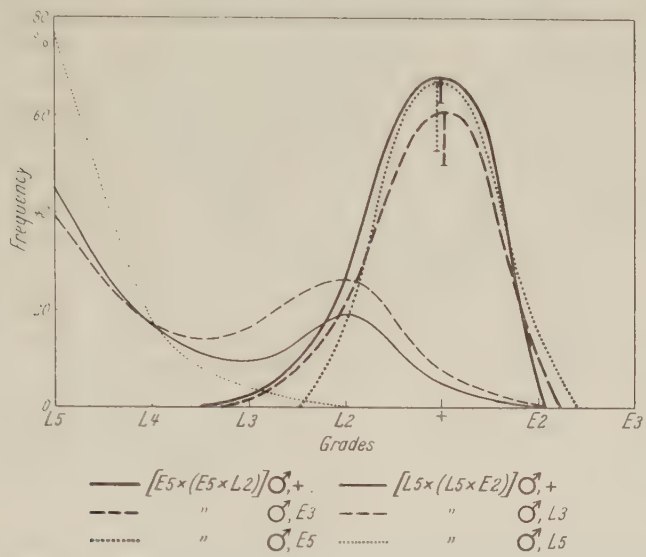


Fig. 11. Female offspring of crosses of hybrid males of various phenotypes to L_5 females (Table 8, 1 to 6).

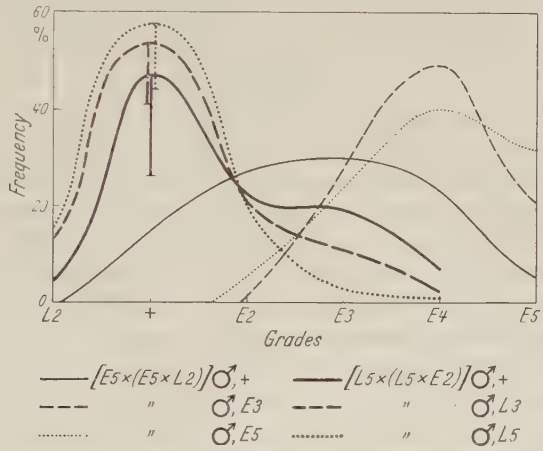


Fig. 12. Female offspring of crosses of hybrid males of various phenotypes to E_5 females (Table 8, 7 to 12).

From the backcross L_5 female $\times$ $(L_5 \times E_2)$ male, three individual males of the L_5 phenotype, three of L_3 phenotype and three of wild type were crossed each to 5 L_5 females; and a similar set of males were crossed to E_5 females. Again from the backcross of E_5 females with $(E_5 \times L_2)$ males, individual males of E_5 phenotype, E_3 phenotype, and wild type, were also crossed with L_5 and with E_5 females (Table 8, Figs. 11 and 12). It will be seen again that within any given predigree the phenotypic differences are reflected in the breeding value, but that this is not so if different predigrees are compared.

Table 8 (Figs. 11 and 12). *Test crosses of males of different phenotype. Percentage of grades in female offspring.*

	Mating	Phenotype of ♂	L_5	L_4	L_3	L_2	+	L_2 and E_2	E_2	E_3	E_4	E_5	Total	No. of Replicates
1	$L_5 \times [E_5 \times (E_5 \times L_2)]$	+			1.3	26.5	62.8	5.0	4.5				309	3
2	,,	E_3				21.1	57.0	11.1	10.4				278	3
3	,,	E_5				16.3	53.2	14.2	16.3				325	3
4	$L_5 \times [L_5 \times (L_5 \times E_2)]$	+	45.2	16.7	14.0	19.0	2.8	2.4					252	3
5	,,	L_3	39.6	16.9	16.5	20.8	4.7	1.6					255	3
6	,,	L_5	77.1	17.7	4.0	1.1							175	3
7	$E_5 \times [E_5 \times (E_5 \times L_2)]$	+					14.7		27.1	29.9	23.1	5.2	402	3
8	,,	E_3						1.1	1.1	28.0	49.0	20.7	358	3
9	,,	E_5						1.4	5.3	21.4	40.0	31.9	285	3
10	$E_5 \times [L_5 \times (L_5 \times E_2)]$	+				4.7	26.1	21.0	22.2	19.3	6.5		383	3
11	,,	L_3				13.1	41.0	12.6	20.5	10.7	2.2		376	3
12	,,	L_5				16.4	45.6	13.7	20.0	3.2	0.9		328	3

Although there was considerable hererogeneity between replicates, the trend differences between 1, 2 and 3; 4, 5 and 6; 7, 8 and 9; 10, 11 and 12, are all significant.

Discussion.

The causal homogeneity of the character.

The appearance in these experiments of flies which showed both an absence of a certain section of the cross-vein and in addition an extra piece of cross-vein elsewhere forces one to consider an aspect of quantitative characters to which as yet little attention has been paid. It is obvious that if one were to take "total quantity of vein in the cross-vein region" as the measureable character whose variation and genetics were being studied, then it would be necessary to recognise that the same quantitative measure could be attained in many different ways by various combinations of deficiencies in the normal crossvein combined with additions or extra pieces. Now there is no *a priori* reason why this should be so. It might well have been that the formation of extra cross-vein was not possible until the whole of the normal cross-vein had been produced. In that case a given quantity of cross-vein could only be produced in one way, and would appear either as a normal cross-vein from which a certain length was absent, or a normal cross-vein to which a certain amount had been added. We can therefore distinguish between two types of phenotypic character which may be described as follows: Let there be an adult character x which can be analysed in some way into two or more sub-characters a, b, c, etc.; then if there are agents effective in development (e. g. genes, environmental stimuli, etc.) which act unequally on the sub-characters a, b, c, etc., we may say that the character is causally inhomogeneous; whereas if all genes, environmental stimuli etc. act equally on all the

sub-characters, we may say that x is, as far as is known, causally homogeneous. (If a single word is preferred to these rather clumsy phrases one might perhaps say that x is „monergistic" instead of causally homogeneous, and "non-monergistic" or "polyergistic" instead of causally inhomogeneous.)

The importance of this distinction is that different types of selective procedure can be utilised for characters of the two types. If we wish to improve by selection a character which is causally homogeneous, then there is nothing we can do but to select those individuals which measure highest on our scale of value for it. If, however, the character x is not causally homogeneous there is the possibility of selecting separately for the sub-characters a, b, c etc., and later combining these selected sub-lines. It should always be possible to improve a given sub-character faster by selecting specifically for it than one could by selecting for the overall character as a global whole. Whether it is in fact useful to do this depends in the main on the ease with which the valuable qualities of several lines selected for different sub-characters could later be combined. If we were dealing with a situation in which the most valuable qualities in each sub-character were controlled by a few rare dominant genes, the preliminary selection for each character separately might give the most rapid progress; a similar argument would apply less forcibly if the rare genes which it was required to collect together were recessive. If, however, each sub-character is controlled by many minor genes of more or less equal effect, so much progress would inevitably be lost when an attempt was made to combine lines separately selected for different sub-character that straightforward selection for the overall character would be more efficient (Hazel and Lush 1942), particularly when heritability is low. Selection of separate sublines, each of its own type, is fairly widely practised in the breeding of beef cattle (where heritabilities are high), and the sub-lines are very useful when it is desired to alter the conformation to meet changes in the type of carcase demanded by the market. Similarly in sheep breeding, emphasis has until recently been placed on the desirability of selecting for follicle density, staple length, fibre diameter, etc. as separate characters. Lately more stress is laid on selecting on the basis of the total fleece weight, but it is admitted that it is still necessary to see that none of the individual sub-characters drops too low (Dr. H. M. Turner, personal communication). From an empirical point of view, each situation must, in fact, be judged on its own merits; in the theory of the subject, however, the concept of causal homogeneity is of obvious importance.

Causal inhomogeneity in a character x implies only that genes affect different aspects of it to different extents, and not that each gene influences one aspect only and has no effect at all on the others. Thus in the case under discussion we have seen that the presence of L factors even in single dose has some effect on the expression of the E character, and *vice versa*. We can probably, in this case, consider that the groups of genes characterising the different L and E stocks all have some effect on both aspects of the "quantity of cross-vein" character, though impinging unequally on the "absence of cross-vein" or "extra cross-vein" aspects of it. It is, of course, possible that in other quantitative characters it will be found that some genes effect exclusively only one aspect of the global total. For instance a gene might influence milk yield by altering the efficiency of the secreting cells without having any effect on the number of such cells.

If it were found that all the genes affecting one such aspect were without effect on the other aspects then the character might be said to be causally multiple.

The genetic uniformity of the variation range.

Even in a character which is causally homogeneous, it might be the case that the whole range of variation is not genetically uniform. By a lack of genetic uniformity is meant a situation in which gene differences between individuals having phenotypes at one end of the variation-range involve loci different from those concerned in the genetic differences between individuals at the other end of the range. For example, a genetically uniform range of variation is that of the shades of eye-colour controlled by alleles of the white locus in Drosophila. The range of cross-vein phenotypes we have been considering clearly cannot be genetically uniform, since they are causally inhomogeneous. But even if we consider only that aspect of the action of the E factors which is causally homogeneous with the L phenotypes, there is evidence of a lack of genetic uniformity. This is shown by the fact that sex-linked factors are important in the E stocks, but play little part in crosses between the L stocks, (although they affect the grade of L phenotype when brought into these stocks by crosses between E and L). The mutant alleles of these sex-linked loci presumably have such a powerful E-producing action that the L end of the variation-range can only be attained by genotypes which contain only the wild type alleles of them.

When a variation-range is genetically non-uniform, the genetic system involved in crosses between individuals at one end of the range may behave quite differently to that concerned crosses at the other end. Two-way selection from an initially intermediate population would then be expected to lead not only to asymmetrical responses (which, as Falconer (1955) has shown, can occur even in a genetically uniform variation range), but to selected populations which differ markedly in their genetic behaviour. Such situations will probably be found to be rather common. Clayton (1955) has found one when studying abdominal bristles in Drosophila. The developmental canalisation of this character is not strong, and a wide range of variation can easily be brought about by selection. Further, it is not much affected by genetic homeostasis, since over a considerable range of bristle number the phenotypes do not differ appreciably in fitness. Nevertheless, Clayton found considerable evidence that quite different genetic systems had come into play in his upward and downward selected lines. There is no reason, therefore, to think that a lack of uniformity will only be apparent when the variation-range includes a well-defined wild type. It will occur whenever there is a ceiling to the activity of some loci, so that phenotypes involving greater activity than this can only be produced by alleles of other loci whose operations are not limited in the same way.

Canalisation of development.

In this investigation two types of evidence have emerged, both of which suggest that the development of the cross-vein is to some extent canalised, that is to say provided with feed-back mechanisms which tend to ensure the production of the normal phenotype. The first type of evidence relates to the interaction of the tendencies towards vein deficiencies with those towards excess vein forma-

hyptention, in so far as these two types of activity are different to one another. As was pointed out above, if the two actions were completely independent we should expect that in any family exhibiting both the L and the E phenotypes there would also be individuals showing both L and E together, and that these would appear in the proportion arrived at by multiplying together the frequencies of the two separate types. Actually we have seen that then is a deficiency of the single mutant phenotypes. Since this occurs in F_1 families in which the L and the E factors have entered from the opposite sides of the cross, it is difficult to see how it could be explained by any form of genetic linkage between the factors. It would seem more reasonable to conclude that E factors, of a potency which is just insufficient to produce a phenotypic effect if they are by themselves, can do so when they are in individuals whose development has already been rendered abnormal by a sufficient dose of L factors; and of course the statement would remain true if one interchanged L for E in it. This implies the existence of a particular form of buffering of normal development, i. e. one in which the normal course of development is difficult to change, so that there is a threshold of effectiveness below which genes are unable to change then phenotype, while as soon as development has been brought into an abnormal course the buffering is no longer so effective and all the thresholds are lowered. This type of phenomenon has been encountered before in studies on the interactions between different genes. Very striking cases in which the action of one gene renders development more sensitive to the effect of a second gene have been described in the interactions between dachsous and dachs or vestigial (Waddington 1943, 1953b), and the conditions which may lead to this type of super-additive interaction between genes have been discussed in the latter paper.

Other considerations which suggest the existence of some kind of canalisation of development arise when we look at the evidence concerning the ways in which the genes interact with one another. For the sake of simplicity in the discussion we may temporarily put on one side the lack of causal homogeneity in the character. This means, in effect, that the discussion will apply to one of the two causally independent aspects of the variation, say to the lack of cross-vein, together with those activities of the E genes which affect it. Similar considerations will apply *mutatis mutandis* to the system consisting of the production of extra cross-veins together with those activities of the L genes which affect it.

Considering one of these two systems, the simplest hypothesis would be to suppose that the amount of cross-vein produced corresponded to the quantity of some precursor substance X. However, this simple hypothesis is clearly not adequate, as is shown by the fact that there can be different wild types, which are similar in the quantity of cross-vein but which differ markedly in genotype and which should therefore differ in the quantity of X they contain.

As a second slightly more complicated hypothesis we might look at the matter in a different way. We can imagine the whole process of vein development as a complex mechanism, involving very many or even all the genes in the genotype, the cytoplasm, environmental factors and so on. The „output" of this mechanism is a certain quantity of vein. The gene differences involved in the different E and L races can be considered as varying "inputs" into this machine. Now if the machine is characterised by servomechanisms, or feed-backs, the

output will not be a precise reflection of the input. It is easy to imagine the output remaining constant, while the input varies over quite a wide range. This is what happens when a voltage-smoothing circuit is used to supply current at a definite voltage notwithstanding variations in the tension of the input. In the same way the output of the developmental system may be the wild type phenotype in a whole range of individuals between whose genotypes there is considerable variation. On the other hand, when the input rises or falls too far away from the norm, the output will more or less slowly begin to follow it.

If such a form of canalisation existed it would be easy to understand how there might be a series of individuals all of wild type phenotype but with very different gene-controlled dosages of the vein precursor X. However, in such a model any particular abnormal phenotype (e. g. crossveinlessness of grade L_2) would have to correspond to some particular X dosage, and thus all individuals of this phenotype would have to be similar in their breeding value. Such a scheme could cover the data of the families in Table 8, in which we saw that among males of the same ancestry slight differences in phenotype reflected differences in genotype as revealed by test crosses. However, the experiments in Table 6 showed that there may be as great differences in genotype among different males of L_2 phenotype as between different wild type males, and this fact demonstrates that this second hypothesis is also inadequate to account for the gene interaction in this case.

Before proceeding further it is necessary to discuss the part which might be played by environmental sources of variation in determining the phenotypes of the individuals in these crosses. Can we suppose that the different L_2 males used as parents in Table 6 all have genotypes which fall between the thresholds within which lies the range of gene dosages of the wild type, and that it is some environmental factor which has pushed their development into the abnormal L_2 channel? Surely not. In some of the males, the genotypes, if they fall within the wild type range, must be near the E threshold (e. g. $E_5 \times L_2$), while in others (e. g. $E_2 \times L_5$) they must be near the L threshold. In both these families, we find that L_2 and E_2 individuals occur. If this difference from wild type is caused by the environment, one would have to conclude that the normal environmental sources of variation can push the development of a genotype which lies near the L threshold into an E_2 phenotype, and one near the E threshold into an L_2 phenotype. But this is inconsistent with the fact that normal wild genotypes scarcely ever show anything but a wild type phenotype; the normal range of environmental variation clearly produces little effect on their development. The phenotypic variation in the various individuals used as parents in Table 6 and elsewhere cannot therefore be attributed to any important extent to the environment, but must be considered as essentially genetic in nature.

The existence of considerable genotypic differences, not only between a number of individuals which are all of wild type phenotype but also between such as are all of one of the grades of abnormal phenotype, can only be accounted for if we postulate not merely one threshold phenomenon, as was suggested above, but a series of such thresholds. The extreme form of such a hypothesis would be to suppose that some form of threshold phenomenon occurs in relation to each gene locus concerned with the character. This is the conventional hypo-

thesis of complete dominance. It may be put in a simplified and diagramatic form as follows: Suppose that there are a series of loci concerned with the character *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, etc.; and that alleles tending to increase the quantity of *X* and thus of cross-vein are written with capital letters, and alleles tending to reduce it with small letters. We suppose that at each locus there is a threshold phenomenon such that the heterozygotes *Aa*, *Bb* etc. fall above the threshold and make as full a contribution to *X* as do *AA*, *BB*, etc., while when the other allele is homozygous (*aa*, *bb* etc.) the action falls below the threshold. Then we can not only have wild types such as $\frac{\text{AbCD}}{\text{aBcd}}$ and $\frac{\text{ABCD}}{\text{AbCD}}$, which will be similar in appearance but different in genotypic value, but the same is true of L_2 phenotypes, which might perhaps be $\frac{\text{AbCd}}{\text{aBcd}}$ and $\frac{\text{ABCd}}{\text{ABCd}}$. This we may consider a third hypothesis as to the mode of gene interaction.

There are certain difficulties about this hypothesis also. In the first place, some modifications would obviously have to be made to cope with the fact that abnormal phenotypes appear in the F_1 of crosses between the L and E strains (e. g. Tables 3 and 4). Moreover it certainly seems that L factors even in single dose have an effect on the grade of expression of E phenotypes and *vice versa* (e. g. Table 8). The hypothesis of complete dominance in its simple form, indeed, does not make it easy to bring under one scheme the whole range of variation from L_5 to E_5, since it treats the wild type as the highest grade of expression which is attained whenever the level of activity rises above the threshold, and it does not, without extra modification, allow of any way of progressing from L phenotypes up to the wild type and then beyond it.

There is a fourth way of envisaging the situation. This scheme postulates a number of threshold phenomena or feed-back mechanisms, but attributes them not to the individual gene loci but to sub-systems of the developmental mechanism.

This suggestion, in its simplest terms, could be expressed in a definite model, rather than abstractly, as follows. Suppose that the formation of the cross-vein depends on the summation of part-systems *P*, *Q*, *R*, S, each controlled by five loci, at each of which there may be one of two alleles, one of high efficiency (symbolised *a'*, *b'* etc.) and one of low efficiency (*a*, *b*, etc.). Further, suppose that *P*, *Q*, *R*, *S* attain their normal value if there are between four and seven high-efficieny alleles in the corresponding set; but if, for instance, the *P* set contains only three such alleles (*a'a*, *b'b*, *c'c*, *d d*, *e e*), *P* falls below its normal value, and the length of the cross-vein falls one grade; while if the set contains eight or more high-efficiency alleles, the cross-vein is increased by one grade. Then we could have wild-types with different breeding values (*P*, *Q*, *R*, *S* each with four high efficiency alleles, or each with seven), and also L_2 with different breeding values (e. g. *P* with three, and *Q*, *R*, *S* each with four or each with seven); and so on.

It will be noticed that according to this suggestion, the non-wild-type individuals will tend to be more homozygous than wild types, the L homozygous for alleles of low efficiency, the E for those of high efficiency. Lerner (1954) has argued that "pheno-deviants" are produced by homozygosis, but seems to imply

that they are often the result of homozygosis as such, independently of the nature of the genes concerned, whereas in the present context we are dealing with two opposite types of pheno-deviants, and it is clear that specific and different alleles must be responsible for the two phenotypes. Moreover the model does not provide any reason why the extremes should always be more homozygous than the intermediate wild type. It does not seem that up to the present any convincing case has been made out for an essential connection between heterozygosity and either an intermediate phenotype or strong developmental canalisation.

This model is more flexible than the conventional formulation in terms of complete dominance and seems more easily applicable to the data which have been revealed by the experiments. We may conclude that the development of the cross-vein is not a single canalised pathway, but rather involves a set of components each of which is to some extent canalised.

Inter and Intra Familiar Heritability.

In the data in Tables 6 and 8, if males of similar ancestry are compared their genotype as revealed by test crosses is correlated with their actual phenotype. On the other hand, if males of different ancestries are compared, the phenotype is clearly a completely unreliable guide to breeding value. Thus if heritabilities were calculated from parent-offspring regressions, in the first place within family groups and in the second within a mixed population containing individuals of different ancestries, they would be greater in the first case than in the second. This would be so whatever level of effectiveness environmental variation may have in affecting the character. The magnitude of the effect would, of course, depend, on the amount of environmental variation present, but it would still be there even if the environment were quite ineffective. Its importance would also be dependent on the degree of genetic difference between the families in the population. For instance, within a breed of dairy cattle, the family differences may be of minor importance. But in a population containing many breed crosses, the intra-family heritability might be expected to be considerably higher than the inter-family. A similar situation would occur if one compared selected with unselected populations. Within the former, heritability might be expected to be higher, as it is among our families which are all wild type or on the L side of it, (or alternatively wild type or no the E side of it).

The low heritability found for such a mixed population as a whole would not necessarily indicate that the genotypic variation was swamped by powerful environmental effects on the development of the character. It would be the servomechanisms of development which prevented it coming to phenotypic expression. We might indeed easily find a low heritability even for characters on the development of which the external environment had no appreciable effect at all. If this were so, the animal's genotype and phenotype would together form a completely deterministic system which it should be possible to understand fully. Geneticists could no longer be content to attribute an inexplicable residue to the disturbing effects of the environment. It would not be appropriate to carry the discussion of this point any further here, but it may be mentioned that a consideration of ancestry would seem likely to be an important clue to further progress in such cases.

Summary.

1. The investigation consists of a study of crosses between four stocks of D. melanogaster which differed in the incidence of gaps in the posterior cross-vein (classified into four grades from L_5, the largest gaps, to L_2, the smallest) or of extra pieces of cross-vein (classified into four grades from E_2, the smallest extras to E_5, the largest). The stocks were designated as: L_5 (frequent large gaps), L_2 (mostly small gaps), E_2 (mostly small extras), E_5 (frequent large extras).

2. Crosses between stocks L_5 and L_2 gave evidence of typical polygenic inheritance of the gaps; and similar crosses between the E_2 and E_5 stocks gave similar evidence with respect to the extras, sex-linked factors being important in this case.

3. In F_1 between L and E stocks, and in various backcrosses and testcrosses, individuals appeared which exhibited gaps in the cross-vein combined with extra fragments of the vein. The character "quantity of cross-vein" is, therefore, not "causally homogeneous", and one and the same total quantity can be attained in different ways (e. g. as a normal cross-vein, or as grade 2 gap combined with a grade 2 extra).

4. Cases of combined gaps-plus-extras are rather more frequent than would be expected from the frequencies of each class separately. It is concluded that the development of the normal cross-vein is to some extent buffered, and that if its development is rendered abnormal (e. g. by genes which produce a gap) it thereby becomes more sensitive to other disturbing agencies (e. g. genes tending to produce extras).

5. Within any one population, derived from a particular set of crosses, the phenotype of an individual gives a fairly good indication of its genotypic value as revealed by test crosses. But if populations of different pedigree are compared, it is found that individuals of the same phenotype may have quite different breeding values. This is so not only for wild type individuals but also for those of abnormal phenotype.

6. Most of the factors concerned are not simply recessive, since a single dose of L factors can change the level of expression of extras, and of E factors that of gaps.

7. It is suggested (*a*) that the phenotype does not alter in direct proportion to the potency of L or E factors present, but is buffered by feed-back mechanisms (formally analogous to those of a constant-output electrical circuit); and (*b*) that in order to account for the different breeding values found among individuals of similar but abnormal phenotype, we have to suppose that the development of the cross-vein includes not one, but several, such cybernetic systems.

Acknowledgements.

This work received financial support from the Agricultural Research Council for which I express my gratitude. I am also indebted to Dr. B. Woolf for statistical advice and assistance. I should like to pay particular tribute to the careful and devoted assistance of Miss Evelyn Paton in the laborious breeding work.

Literature.

Clayton, G. A.: Studies in quantitative genetics in *Drosophila*. Ph. D. Thesis, Edinburgh University 1955. — Falconer, D. S.: Asymmetrical responses in two-way selection experiments. Proc. 9th Intern. Congr. Genet. 1955. — Goldschmidt, R.: A study of spontaneous mutation. Univ. Calif. Publ. Zool. **49**, 291 (1945). — Hazel, L. N., and J. L. Lush: The efficiency of three methods of selection. J. Hered. **33**, 393 (1942). — Lerner, I. M.: *Genetic Homeostasis*. Edinburgh: Oliver & Boyd 1954. — Schmalhausen, I. I.: *Factors of Evolution*. Philadelphia: P. Blakiston, Sohn & Co. 1949. — Waddington, C. H.: *Organisers and Genes*. Cambridge Univ. Press 1940. Canalisation of development and the inheritance of acquired characters. Nature (Lond.) **150**, 563 (1942). — The development of some" leg genes" in *Drosophila*. J. Genet. **45**, 29 (1943). The interaction of some morphogenetic genes in *Drosophila*. J. Genet. **51**, 243 (1953a). — Genetic assimilation of an acquired character. Evolution **7**, 118 (1953b). — The integration of gene-controlled processes and its bearing on evolution. Proc. 9th Inter. Congr. Genet., p. 232, 1954.

Dr. C. H. Waddington, Institute of Animal Genetics, (Edinburgh/Great Britain.)

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 87, S. 229–266 (1955).

Aus dem Zoologisch-vergl. anatomischen Institut der Universität Zürich.

VERSUCHE ZUR PHÄNOKOPIERENDEN WIRKUNG VON CHEMIKALIEN (NITROGEN-MUSTARD U. A.) BEI *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von

May Bertschmann.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Januar 1955.)

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung und Problemstellung 229

I. Die modifizierende Wirkung des Nitrogen-Mustard 230

1. Material und Methodik 230
2. Die beobachteten Modifikationen 231
3. Vergleich der Modifikationshäufigkeiten bei Behandelten und bei Kontrollen . . 235
4. Die Modifikation der gekerbten Flügel 236
   a) Beschreibung der Modifikation S. 236. — b) Die sensible Phase S. 236. — c) Die Temperaturabhängigkeit der Modifikation S. 238. — d) Das Vorkommen der Modifikation bei anderen *melanogaster-wild*-Stämmen S. 239. — e) Kontrollversuche S. 240.
5. Genetische Prüfung der Flügelkerben-Modifikation 240
   a) Selektionsexperiment S. 241. — b) Kreuzungsversuche S. 243. — c) Diskussion S. 244.
6. Behandlung von Imaginalscheiben mit Nitrogen-Mustard 246
   a) Material und Methodik S. 246. — b) Kontrollen S. 247. — c) Resultate S. 247. d) Diskussion S. 250.
7. Injektionsversuche mit Nitrogen-Mustard 252
   a) Material und Methodik S. 252. — b) Testmethoden und Kontrollversuche S. 253. — c) Schlüpfraten S. 253. — d) Dosisabhängigkeit der Modifikationsraten S. 253. — e) Phänokopien von Letalfaktoren S. 255.

II. Anwendung spezifisch wirkender Substanzen 257

1. Einleitung 257
2. Verfütterungsversuche (KSCN, $AgNO_3$, NaF, $HgCl_2$, Semicarbazid) 257
3. Injektionsversuche (Pantothensaures Calcium, Nicotinsäureamid, Sulfanilamid, Schlangengift, Chinon) 260

Schlußbesprechung 262

Zusammenfassung 264

Literatur 265

Einleitung und Problemstellung[1].

Phänokopieversuche können Aufschluß geben über allgemeine entwicklungsphysiologische Probleme; im speziellen auch über genische Kontrolle der Entwicklung. In dieser Hinsicht eignet sich als Versuchsobjekt *Drosophila melanogaster* in ganz besonderer Weise, da eine große Zahl von genbedingt abnorm verlaufenden Entwicklungsprozessen bekannt ist. Seit Jahren sind Phänokopieversuche an *Drosophila* unternommen worden, anfänglich mit der hauptsächlichen Zielsetzung, die Möglichkeit der Determination gleicher Phänotypen durch Umwelt- und durch Geneinflüsse nachzuweisen. Vor allem wurden von verschiedenen Autoren extreme Temperaturen (Hitze, Kälte), Röntgenstrahlen,

[1] Meinen verehrten Lehrern, Herrn Prof. E. Hadorn und Herrn P.-D. Dr. H. Gloor, möchte ich herzlich danken für das Interesse, mit dem sie meine Arbeit stets verfolgten. Herrn Dr. Gloor, unter dessen Leitung die vorliegenden Untersuchungen durchgeführt wurden, bin ich zu besonderem Dank verpflichtet.

ultraviolettes Licht angewandt; daneben Neutronen (Enzmann und Haskins 1939) und neuerdings auch Ultraschallwellen (Fritz-Niggli 1950, 1951). Nach der Interpretation Goldschmidts (1945) wurde durch diese Behandlungen ein großer Teil derjenigen Mutanten phänokopiert, die durch Veränderungen in Reaktionsgeschwindigkeiten bedingt sind. Die phänotypische Übereinstimmung von Mutante und Phänokopie würde sich dabei aus der gleichsinnigen Verschiebung von Reaktionsgeschwindigkeiten durch ein mutiertes Gen einerseits und durch ein äußeres induzierendes Agens andererseits ergeben. Neben solchen quantitativen Verschiebungen sind qualitative Veränderungen im Stoffwechselgeschehen zu postulieren. Es sind darunter Mutanten zusammenzufassen, welche bestimmte Stoffwechselschritte verunmöglichen oder abändern. Phänokopien solcher Mutanten sind von den erwähnten Agentien kaum zu erwarten; jedoch bieten Chemikalien in dieser Hinsicht verlockende Möglichkeiten. Versuche in der Richtung wurden von Rapoport (1939) unternommen, wobei mit verschiedenen Substanzen anscheinend spezifische Modifikationen erzeugt werden konnten. Die Stoffe wurden jedoch alle auf dem Umweg der Verfütterung appliziert. Gloor (1947) und Bodenstein und Abdel-Malek (1949) gingen einen anderen Weg, indem sie Eier bzw. Larven von *Drosophila* mit Dämpfen oder Lösungen bestimmter Stoffe (Äther, Nitrogen-Mustard) behandelten. Die auf solche Weise erzeugten Phänokopien waren nur insofern „spezifisch", als nicht eine beliebige Auswahl, sondern einige ganz bestimmte Modifikationen sich ergaben. Diese selben Modifikationen können aber unter Umständen durch ganz andersartige Agentien auch hervorgerufen werden.

Es ist wünschenswert, die Methode der Phänokopierung in verschiedenen Richtungen auszubauen. Einerseits sollen einzelne als wirksam bekannte Stoffe auf breiterer Basis geprüft werden, hauptsächlich mit folgender Fragestellung:

a) Ist es möglich, durch direktere Applikation und genauere Dosierung bestimmte Beziehungen zwischen Agens und Effekt aufzustellen?

b) Inwieweit ist eine genotypische Disposition des behandelten Wildstammes an der „Spezifität" der Reaktion beteiligt?

Andererseits sind die Versuche auf Substanzen mit möglichst bekannter physiologischer Wirkungsweise auszudehnen, denn erst wenn es gelingt, eine ganz bestimmte Substanz so zu applizieren, daß dadurch eine spezifische Modifikation entsteht, wird es möglich sein, den dabei direkt beteiligten physiologischen Vorgang zu analysieren (Gloor 1947).

I. Die modifizierende Wirkung von Nitrogen-Mustard (Stickstofflost).

1. Material und Methodik.

Stämme. Die Versuche wurden zur Hauptsache an einem *Berlin-Inzucht*-Stamm von *Drosophila melanogaster* durchgeführt. In einigen Versuchen wurden zu Vergleichszwecken noch folgende *melanogaster-wild*-Stämme verwendet: *Berlin, Zürich, Sevelen, Camargue, Kairo* und *Oregon.*

Zuchtbedingungen. Die Tiere wurden nicht wie üblich bei einer Temperatur von 25° gehalten, sondern bei 27,5° ± 0,5°. Die Entwicklung ist unter diesen Bedingungen leicht beschleunigt. Das Schlüpfen aus dem Ei erfolgt 19—20 Std nach der Eiablage, die Puparisierung ungefähr 90 Std und das Schlüpfen der Imagines ungefähr 180 Std nach der Eiablage.

Für die Experimente war eine genaue Altersbestimmung der verwendeten Tiere unerläßlich. Sie wurde nach der üblichen Methode vorgenommen: 30—40 Fliegenpaare wurden zur Eiablage in ein horizontal gelegtes Becherglas gebracht und häufig (tagsüber alle 2—6 Std) mit frischem Futter versehen. Nur Eier von 4—12 Tage alten Imagines wurden aufgezogen.

Das Futter wurde in 2stündlichen Intervallen gewechselt und die Eier, die in dieser Zeit abgelegt worden waren, wurden in Futterschalen (5 × 10 cm) mit Standardfutter und viel frischer Hefe aufgezogen. Die Altersangaben sind also auf ± 1 Std genau.

Behandlung. In verschiedenen Zeitabständen nach der Eiablage wurden Larven aus den Futterschalen herausgesucht, in einer Ringerlösung für *Drosophila* (Ephrussi und Beadle 1936) mehrmals gewaschen, dann auf Filtrierpapier getrocknet. Je 50 oder 100 Tiere wurden in 3 cm³ einer 2%igen Lösung von Nitrogen-Mustard (NM) gebracht. Ein NM der Formel $NCH_3(CH_2CH_2Cl)_2$* stand mir zur Verfügung. Die Substanz wurde in einer *Drosophila*-Ringerlösung, bei der ein Teil des KCl und NaCl durch $NaHCO_3$ ersetzt worden war, gelöst. Der Bicarbonatzusatz puffert die Lösung auf einen p_H-Wert von etwa 7, was notwendig ist um eine gute und gleichmäßige Wirkung des NM zu garantieren. Das Bad dauerte 30 min und erfolgte bei Zimmertemperatur, sofern keine anderen Angaben an der betreffenden Stelle im Text gemacht werden. Die Behandlung entsprach also derjenigen, wie sie Bodenstein und Abdel-Malek (1949) an *Drosophila virilis* angewandt haben. Nach dem Bad wurden die Larven wiederum in *Drosophila*-Ringerlösung gewaschen, abgetrocknet und in eine neue Schale mit Standardfutter gebracht. Die Weiterzucht nach der Behandlung erfolgte entweder wieder bei 27,5° oder dann bei 13°. Angaben darüber finden sich jeweils im Text. Es wurden hauptsächlich Larven des dritten Stadiums behandelt. Die im folgenden beschriebenen Modifikationen beziehen sich, mit wenigen im Text erwähnten Ausnahmen, auf solche Tiere.

2. *Die beobachteten Modifikationen.*

Flügelmodifikationen. Es wurden Veränderungen der Flügelstellung, Flügelspannung, Flügelform und des Flügelgeäders beobachtet. Sie werden im folgenden einzeln aufgeführt und kurz beschrieben.

Gekerbte Flügel. Längs des ganzen Flügelrandes, besonders aber an der Flügelspitze oder am Flügelhinterrand, finden sich Einkerbungen.

Die Modifikation entspricht dem von Goldschmidt (1935) beschriebenen kn-Effekt und den auch von anderen Autoren meist in geringen Häufigkeiten und Expressivitätsgraden gefundenen Abänderungen (Friesen 1936, Buchmann und Timoféeff-Ressovsky 1938, Epsteins 1939, Henke, v. Finck und Ma 1941). Sie tritt nur nach Behandlung im dritten Larvenstadium auf; dann aber in sehr großer Häufigkeit. Sie wurde eingehender untersucht und soll in späteren Kapiteln besprochen werden.

Blasige und ballonartige Flügel. Sie entsprechen im Phänotyp ungefähr den Mutanten *balloon* und *blistered*. Die beiden Flügelepithelien liegen in ihrer ganzen Ausdehnung oder stellenweise nicht aufeinander, sondern bilden zwischen sich bluterfüllte Räume. Bei den erwähnten Mutanten scheint allerdings immer auch die Aderbildung gestört zu sein, was bei den Modifikationen nicht unbedingt der Fall zu sein braucht. Blasige Flügel können normal geädert sein. Oft fehlen jedoch einzelne Aderstücke oder es werden zusätzliche Adern gebildet. Die Modifikationen erscheinen in geringen Prozentsätzen nach Behandlung während des ganzen dritten Larvenstadiums, aber auch Behandlung im frühen zweiten und im ersten Stadium führte gelegentlich zu blasigen Flügeln.

Goldschmidt (1935), Buchmann und Timoféeff-Ressovsky (1938), Henke, v. Finck und Ma (1941) erhielten gleiche Modifikationen nach Applikation von Hitze. Es erwiesen sich ebenfalls verschiedene Altersstadien als sensibel. Epsteins (1939) erzielte durch Bestrahlung der Tiere mit ultraviolettem Licht, Friesen (1936) durch Röntgenbestrahlung entsprechende Veränderungen.

Abnorm geäderte Flügel. Sie traten nur gelegentlich auf, wenn die behandelten Larven bei 27,5° aufgezogen wurden. Brachte man sie dagegen vom Zeitpunkt der Behandlung bis nach dem Schlüpfen in eine Temperatur von 13°, so waren fast ausnahmslos alle Flügel abnorm geädert. Die abnorme Äderung läßt sich

* Fräulein Dr. Ch. Auerbach, Edinburgh, möchte ich herzlich danken für die Überlassung des Nitrogen-Mustards.

nicht allein auf die NM-Wirkung zurückführen. Auch Kontrolltiere zeigten häufig Veränderungen des Flügelgeäders, wenn man sie nach einem Bad in gewöhnlicher Ringerlösung in einer Temperatur von 13° aufzog (37% der geschlüpften Kontrollen). Diese Veränderungen betreffen aber lediglich die distalen Enden der Adern, die sehr schwach verdickt sind, während behandelte Tiere starke Verbreiterungen der Aderenden zeigen. Zudem sind die Längsadern häufig unterbrochen, besonders die L_2. Oft fehlt das distale Ende der L_5 so weit, daß die hintere Querader schief zu stehen kommt. Es können auch die Queradern unterbrochen sein oder ganz fehlen; ebenso können L_3 oder L_4 stückweise ausfallen. Vielfach treten in der Flügelfläche zusätzliche Aderstücke auf, ähnlich der Mutante *plexus*. Eine bevorzugte Stelle für eine zusätzliche Ader scheint der Winkel zu sein, wo sich L_1 und L_2 treffen. In einigem Abstand proximal von ihrem Treffpunkt findet man besonders häufig eine Querverbindung.

Die Auslösung dieser Modifikation gelingt leicht im dritten Larvenstadium. Zu Beginn und gegen Ende des dritten Stadiums scheint die Modifikationshäufigkeit geringer zu sein, wahrscheinlich erstreckt sich jedoch die Sensibilität von frühen Larvenstadien bis ins Puppenstadium.

Die beschriebenen Modifikationen lassen sich durch Hitzebehandlung ebenfalls hervorrufen (Goldschmidt 1935, Buchmann und Timoféeff-Ressovsky 1938, Henke, v. Finck und Ma 1941). Allerdings hat Goldschmidt nie das Fehlen von Aderstücken feststellen können, Henke und Mitarbeiter nur Unterbrechungen von Queradern. Hervorzuheben ist die Tatsache, daß mäßige Kälteeinwirkung allein schon die normale Entwicklung des Flügelgeäders stören kann, und daß der NM diese schon vorhandene Tendenz verstärkt. Diese Tatsache ist aufschlußreich im Zusammenhang mit dem Auftreten gekerbter Flügel nach Kälte- und NM-Behandlung, deren Bedeutung eingehender diskutiert werden soll (S. 245).

Gespreizte Flügel, aufgerichtete Flügel, dachartige Flügel. Diese 3 Modifikationen der Flügelstellung können vor allem in der zweiten Hälfte des dritten Larvenstadiums ausgelöst werden. Am häufigsten sind aufgerichtete Flügel.

Alle 3 Modifikationen sind mit Hitze ebenfalls hervorgebracht worden (Goldschmidt u. a., loc. cit.). Aufgerichtete Flügel traten aber durch Hitzeeinwirkung nur nach Reizung später Puppenstadien mit schon in Ausfärbung begriffenen Flügeln auf. Gespreizte und dachartige Flügelstellung ließ sich auch durch Hitzereizung im dritten Larvenstadium oder im Vorpuppen- oder Puppenstadium hervorrufen (Henke, v. Finck und Ma). Mit ultraviolettem Licht gelang ebenfalls die Modifikation der gespreizten Flügel (Epsteins), mit Röntgenstrahlen alle 3 hier beschriebenen Typen. Sie waren zum Teil schon im ersten und zweiten Larvenstadium auslösbar.

Modifikationen des Abdomens. Die Tergite des Abdomens sind oft in der Mitte unterbrochen. Gelegentlich wird eine Verbindung einer solchen Tergitenhälfte mit einer gegenüberliegenden vorderen, bzw. hinteren Hälfte hergestellt. Die Tergite sind stellenweise nicht chitinisiert, ihr Hinterrand ist nicht gleichmäßig glatt, sondern leicht gekerbt. Die Pigmentierung kann fleckig sein. In sehr schweren Fällen bleibt die imaginale Differenzierung des Abdomens ganz oder teilweise aus.

Sensibilität für die Modifikation besteht in allen Larvenstadien. Auch Behandlung junger Vorpuppen ließ die Abnormität noch häufig entstehen.

Teilweise entsprechende Modifikationen wurden auch in den Phänokopieversuchen anderer, bereits erwähnter Autoren beobachtet. Ebenso ließ sich mit Ultraschall eine gleichartige Schädigung in der imaginalen Differenzierung des Abdomens hervorrufen (Fritz-Niggli 1950, 1951). Die Verhältnisse der sensiblen Phasen liegen nicht einfach. Henke, v. Finck und Ma fanden vor allem embryonale, spätlarvale und pupale Stadien reaktionsfähig. In den Versuchen von Buchmann und Timoféeff-Ressovsky waren die verschiedensten Stadien sensibel. Die zweite Hälfte des dritten Larvenstadiums wies auch hier ein Häufig-

keitsmaximum auf. Nach EPSTEINS ist Ultraviolett wirksam bei Anwendung gegen Ende des dritten Larvenstadiums und in den ersten Tagen nach der Puparisierung, nach GEIGY (1931) in der späten Embryonalzeit und in der Larvenzeit bis zum zweiten Stadium. FRITZ-NIGGLI hat die Modifikation „abnormes Abdomen" durch Röntgenbestrahlung bei jungen Puppen auslösen können. FRIESEN beschreibt Vorpuppen, Larven des älteren dritten und des ersten Stadiums als sensibel.

Modifikationen des Humerus. Bei NM-behandelten Tieren kann der Humerus gänzlich verschwunden sein. Der Thorax erscheint in diesen Fällen vorn seitlich abgeflacht. Viel häufiger fehlen nur eine oder beide Humeralborsten, oder diese sind hakig abgebogen, seltener sind überzählige Borsten zu finden. Diese Variationen können als verschiedene Stufen derselben Anomalie betrachtet werden. In schwacher Ausprägung kommt die Modifikation auch bei den Kontrolltieren vor, jedoch seltener als bei den behandelten. Die Modifikation kann nach Behandlung irgendeines Larvenstadiums auftreten.

Abb. 1. NM-modifizierte Tarsen. Extreme Typen mit lokalen Verdickungen und dunklen Einschlüssen. Ausgelöst in der zweiten Hälfte des dritten Larvenstadiums.

Beinmodifikationen. Besonders häufig sind die Hinterbeine modifiziert, seltener Vorder- und Mittelbeine. Häufig entstehen verdickte und verkrümmte Gliedmaßen. Die Tarsalglieder erscheinen aufgeschwollen, verdreht und zum Teil verschmolzen. Auch Tibia und Femur können in die gestörte Entwicklung einbezogen sein. Nicht alle abnorm ausgebildeten Beine lassen sich zu einem einheitlichen Modifikationstyp zusammenfassen. Es scheint neben diesem eben beschriebenen ein weiterer Typ aufzutreten, dessen wesentliches Merkmal lokalisierte Verdickungen sind, die meist dicht mit starken Borsten besetzt sind. Bei stärkerer Ausprägung des Merkmals entstehen langgezogene unregelmäßig gekrümmte, borstenbesetzte Protuberanzen, die seitlich vom Tarsus abstehen (Abb. 1).

Der letztgenannte Modifikationstyp wurde nur nach Reizung in der zweiten Hälfte des dritten Larvenstadiums beobachtet. Die Modifikation der verdickten und verkrümmten Beine dagegen ließ sich durch Behandlung auf einem beliebigen Larvenstadium auslösen, mit einem Maximum bezüglich Häufigkeit und Stärke im zweiten und frühen dritten Larvenstadium.

Die Modifikation der verkrüppelten Beine scheint sehr leicht und häufig zu entstehen. GOLDSCHMIDT, BUCHMANN und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, HENKE, v. FINCK und MA erzielten sie mit Hiltze. Nach HENKE sind die verschiedensten Entwicklungsstadien vom Ei bis zur Puppe reaktionsfähig. GEIGY und EPSTEINS modifizierten mit ultraviolettem Licht die Gliedmaßen in gleicher Weise. WADDINGTON (1942) beschreibt entsprechende Modifikationen nach Röntgenbestrahlung; FRITZ-NIGGLI (1951) konnte sie mit Ultraschall erzeugen und endlich erwähnt auch BODENSTEIN (1947) Modifikationen der Beine nach NM-Behandlung von *Drosophila virilis.* Die Abnormität der „Beine mit Protuberanzen" wird von keinem der genannten Autoren gesondert beschrieben.

Borstenmodifikationen. Abnormitäten der Borstenbildung treten in großer Mannigfaltigkeit auf. Am häufigsten war das *Fehlen von Borsten,* besonders an Kopf und Thorax, gelegentlich am Abdomen oder an den Extremitäten (besonders

Stelle des Geschlechtskammes). *Überzählige Borsten* treten ebenso überall am Körper auf, sehr häufig am Thorax, wo nicht selten 3—4 Dorsozentralborsten hintereinander stehen, eine Abnormität, die auch bei Kältekontrollen vorkommt (Tabelle 1, S. 235). *Hakige, verkürzte, verdickte, verkleinerte Borsten* finden sich gelegentlich, besonders am Kopf und am Thorax. Große, dicke Borsten stehen mit Vorzug an dicht beborsteten Stellen, z. B. den oben beschriebenen Protuberanzen und lokalen Verdickungen der Beine und an den Geschlechtskämmen. Man kann sie als Verschmelzungsprodukt auffassen. Wo in einem Umkreis die „normalen" Borsten fehlen, kann ebenfalls, gleichsam als Kompensation eine besonders große und dicke Borste ausgebildet sein. In diesem Zusammenhang soll auch der dichte Besatz von starken Borsten erwähnt werden, der sich regelmäßig an den Flügelrändern findet, in unmittelbarer Nachbarschaft einer Kerbe, wo die Randborsten fehlen (vgl. Abb. 2 und 4).

Die erwähnten Borstenmodifikationstypen konnten mit verschiedensten Agentien, wie Hitze, Röntgenstrahlen, Ultraviolett ebenfalls ausgelöst werden. Als sensibel werden im allgemeinen übereinstimmend spätlarvale, vorpupale und pupale Stadien genannt.

Augenmodifikationen. Die Anordnung der Facetten ist unregelmäßig, die Größe und Form der einzelnen Facetten variiert stark, zum Teil scheinen Verschmelzungen von Facetten vorgekommen zu sein. Die Beborstung der Augen ist dadurch unregelmäßig, die Fläche der Augen erscheint „rauh". Veränderungen in der Ausbildung der Facetten und Borsten finden sich allein oder, bei stärkerer Manifestation, zusammen mit Veränderungen der Augenform. Verkleinerungen in der Art der Mutante *eyeless* bis zu starken Expressivitätsgraden, wo nur winzige Augen vorhanden sind, kommen oft vor, ebenso Einschnitte in die Augenfläche von der Mitte des Augenvorderrandes ausgehend, wodurch die Augen nierenförmig werden. An der Einschnittstelle kann ein borstentragender Höcker stehen. Die Augenmodifikation kann durch Behandlung im zweiten Larvenstadium bereits ausgelöst werden. Behandlung in späteren Entwicklungsstadien führt zu höheren Modifikationsraten. Fast während des ganzen dritten Larvenstadiums ist die Sensibilität so groß, daß zwischen 90 und 100% der Tiere das Merkmal aufweisen, mit stärkster Expressivität im mittleren dritten Larvenstadium.

Ein solches Maximum der Empfindlichkeit zu eben demselben Zeitpunkt beschreiben Sanae Kaji und Masahiro Ogaki (1951). Mit fast der gleichen Versuchsanordnung (aber Dauer des Bades 60 statt nur 30 min) erhielten die erwähnten Verfasser bei Verwendung eines *Oregon-wild-Stammes* von *Drosophila melanogaster* die entsprechende Modifikation in maximal 24,2%. Die sensible Phase war fast ausschließlich auf das dritte Larvenstadium beschränkt. Diese Tatsache läßt vermuten, daß jener *Oregon*-Stamm gegenüber der Behandlung mit NM weit weniger empfindlich ist als der von mir geprüfte *Berlin-Inzucht*-Stamm. Auch andere, später zu behandelnde Ergebnisse (S. 239) weisen in dieselbe Richtung. Bodenstein (1947) erwähnt ebenfalls die NM-bedingte Modifikation „rauher Augen" bei *Drosophila virilis*.

In Hitzeversuchen (Henke, v. Finck und Ma) waren Altersstufen von Beginn des dritten Larvenstadiums bis zur Ausdifferenzierung der Augen empfindlich. Es scheinen reaktionsfähigere mit weniger reaktionsfähigen Perioden abzuwechseln. Goldschmidt prüfte Puppenstadien und erhielt die Modifikation mit Hitze. Buchmann und Timoféeff-Ressovsky konnten die Veränderung durch Röntgenbestrahlung der Larvenstadien I und II und der jungen Puppe auslösen. Sie erhielten ein Häufigkeitsmaximum im dritten Larvenstadium. Ein Häufigkeitsmaximum nach Röntgenbestrahlung im dritten Larvenstadium beobachtete auch Friesen. Bei Beginn der Verpuppung konnten keine Augenmodifikationen mehr induziert werden; dagegen erwiesen sich nach Ultraschallbehandlung (Fritz-Niggli 1950, 1951) vor allem Vorpuppen und Puppen als sensibel. In den Versuchen Waddingtons (Röntgenbestrahlung) dehnte sich die sensible Phase ebenfalls bis ins Vorpuppenstadium aus, jedoch

entstanden stärkst betroffene Typen nach Behandlung mittlerer und später Larvenstadien. Häufig waren dabei palpusartige Protuberanzen an Stelle von facettierter Augenfläche zu beobachten; offenbar entsprechend den hier beschriebenen borstentragenden Höckern an der Einschnittstelle des Augenvorderrandes.

Ocellenmodifikationen. Gelegentlich sind die Abstände zwischen den 3 Ocellen verkleinert. In einigen Fällen fehlten eine oder alle drei Ocellen. Die Modifikation trat nur nach Behandlung kurz vor der Verpuppung auf.

Modifikationen der Arista. Drosophila virilis reagierte in den Versuchen von Bodenstein und Abdel-Malek (1949) auf NM-Behandlung mit der Umwandlung der Arista in beinartige Strukturen. Der von mir verwendete *Drosophila melanogaster*-Stamm besitzt die Möglichkeit so zu reagieren offenbar nicht oder nur in äußerst geringem Maße. Wurden die behandelten Tiere bei gewöhnlicher Zuchttemperatur gehalten, zeigten sich nie typische „*aristapedia*"-Bildungen. Höchstens war die Arista an ihrer Basis ganz leicht verdickt oder sie trug verbogene Borsten. Unter den Tieren, die nach der Behandlung bei 13° gehalten wurden, traten 2mal beinartige Veränderungen einer Arista auf. Da aber die Gesamtzahl aller kontrollierten Tiere über 2000 betrug (hohe und tiefe Zuchttemperatur nach der NM-Behandlung zusammengefaßt), ergäbe sich eine Modifikationsrate von höchstens 0,1% gegenüber 0% bei den Kontrolltieren.

Verdoppelungen. Sie sind wohl in allen Fällen als Folge einer Aufspaltung eines ursprünglich einheitlichen Anlagematerials aufzufassen. Am leichtesten traten Verdoppelungen der Beine auf. Die Aufspaltung beginnt am distalsten Tarsusglied und reicht verschieden weit in die proximaleren Beinteile hinein. Außerdem sind je 1 Fall von einseitig verdoppelter Antenne und einseitig verdoppeltem Palpus aufgetreten. Alle Fälle von Verdoppelungen traten nach Behandlung im zweiten Larvenstadium auf.

3. Vergleich der Modifikationshäufigkeiten bei Behandelten und bei Kontrollen. Tabelle 1 gibt eine summarische Zusammenstellung der während des dritten Larvenstadiums festgestellten durchschnittlichen Modifikationshäufigkeiten unter Weglassung der seltenen Typen. In den einzelnen Gruppen können dabei verschiedenartige Modifikationen desselben Organes zusammengefaßt sein, so z. B. in der Gruppe der Borstenmodifikationen, wo alle beschriebenen Typen figurieren. Stark heterogen ist auch die Gruppe der Flügelmodifikationen, worunter hauptsächlich „aufgestellte" Flügel sich finden, daneben aber auch die übrigen S. 231 bis 232 genannten Typen.

Tabelle 1. *Modifikationshäufigkeiten bei Behandelten und bei Kontrollen; Durchschnittswerte für das dritte Larvenstadium.*

Versuchsgruppe	Flügelkerben %	Abnorme Flügel %	Flügeladäder %	Abdomen %	Humerus %	Beine %	Borsten %	Augen %	Arista %
I	30,0	12,0	4,0	5,0	62,0	28,0	88,0	81,0	0,1
II	—	0,7	0,4	0,3	9,0	0,3	4,7	—	—
III	0,5[1]	1,0	37,0[2]	0,1	13,0	0,7	31,0[3]	0,5	—

I = NM-Behandlung 27,5°; Werte aus 1409 Tieren berechnet. II = Kontrollen bei 27,5°; Werte aus 748 Tieren berechnet. III = Kontrollen bei 13°; Werte aus 420 Tieren berechnet.

[1] Prozentsatz aus einer größeren Anzahl Tiere berechnet.

[2] Bedingt durch häufige, sehr schwache Längsaderverdickungen (vgl. S. 232).

[3] In der Hauptsache bedingt durch überzählige Dorsozentralborsten (vgl. S. 234).

Daß viele der NM-bedingten Modifikationen (in nicht geringen Häufigkeiten, aber sehr geringen Expressivitätsgraden) auch bei Kontrollen auftraten, braucht nicht zu überraschen. Es sind diejenigen Modifikationen, die üblicherweise in jedem Stamme auch unter „normalen" Zuchtbedingungen auftreten. Die einzige Ausnahme bildete vielleicht die Modifikation des Humerus, deren häufiges Vorkommen stammspezifisch sein dürfte. Das Auftreten der Modifikationen bei Kontrollen im allgemeinen, im besonderen aber das stammspezifische Vorkommen gewisser Modifikationen soll in anderem Zusammenhang (S. 245) eingehender diskutiert werden.

4. Die Modifikation der gekerbten Flügel.

Eine kurze Beschreibung der Flügelkerbenmodifikation, sowie ihrer sensiblen Phase und ihrer Temperaturabhängigkeit wurde bereits an anderer Stelle (BERTSCHMANN 1952) gegeben. Hier sollen die Resultate in größeren Zusammenhang gestellt und eingehender besprochen werden.

a) Beschreibung der Modifikation. Abb. 2 zeigt verschiedene charakteristische Typen von gekerbten Flügeln, bei a mit schwachen Expressivitätsgraden beginnend. Schwächste Anzeichen von Kerben sind durch einen stellenweisen Ausfall der Flügelrandborsten gegeben. Solche borstenlosen Randzonen finden sich meist einzeln an einem Flügel, sehr häufig am hinteren proximalen Umbiegungsrand, häufig auch sonst am Hinterrand oder an der Flügelspitze. Nur ganz ausnahmsweise finden wir sie am Flügelvorderrand. Die nächst stärkeren Expressivitätsstufen (b und c) zeigen eigentliche Kerben, meist aber noch einzeln und häufig nur an einem der beiden Flügel, nicht tief in die Flügelfläche hineingreifend. Bei stärkeren Expressivitätsstufen (d—g) sind oft mehrere und zum Teil tiefe Kerben längs des Flügelrandes vorhanden, wobei auch hier der Flügelvorderrand sich am widerstandsfähigsten zeigt. Bei dem nur selten auftretenden extremen Typus (h) fällt der ganze hintere Flügelteil weg mit Ausnahme eines kleinen proximal gelegenen Lappens; während bei der stärksten Expressivitätsstufe (i) auch der Flügelvorderrand wegfällt. Bei den stärkeren Stufen (d—i) sind meistens beide Flügel betroffen.

Von den zahlreichen Allelserien, welche Flügelkerben verursachen, weiß man, daß sie fortschreitend von schwach zu stark expressiven Allelen die Flügelfläche nach einem ganz bestimmten Angriffsmuster beschneiden (GOLDSCHMIDT 1935). Es ist nicht möglich, die aus der NM-Behandlung resultierenden Flügelkerben nach ihrem Angriffsmuster eindeutig einer und nur einer Allelserie von Mutationen zuzuordnen. Wenn auch bestimmte Stellen des Flügels bevorzugt ausfallen, sind doch Kerben an anderen Stellen der Flügelrandzone zu häufig, als daß sie noch als Ausnahmen taxiert werden könnten. Die Variationsbreite der modifikatorischen Flügelkerben ist viel größer als diejenige der mutativen eines einzelnen Genes, sowohl in bezug auf ihr Angriffsmuster als auch in bezug auf ihre Expressivitätsstufen. Es ist somit streng genommen nicht möglich, die Modifikation der gekerbten Flügel als Phänokopie einer bestimmten Mutate zu bezeichnen. Sie soll im folgenden kurz *gk*-Modifikation oder *gk*-Merkmal genannt werden.

b) Die sensible Phase. Abb. 3 (untere Kurve) zeigt, daß gekerbte Flügel nur durch Behandlung in einem bestimmten Entwicklungsstadium induziert werden konnten; d. h. daß für die Modifikation eine typische sensible Phase besteht. Sie beginnt mit 52 Std und erreicht bei 72 Std ein Maximum. Hernach sinkt die Häufigkeitskurve ab und erreicht noch vor der Puparisierung den

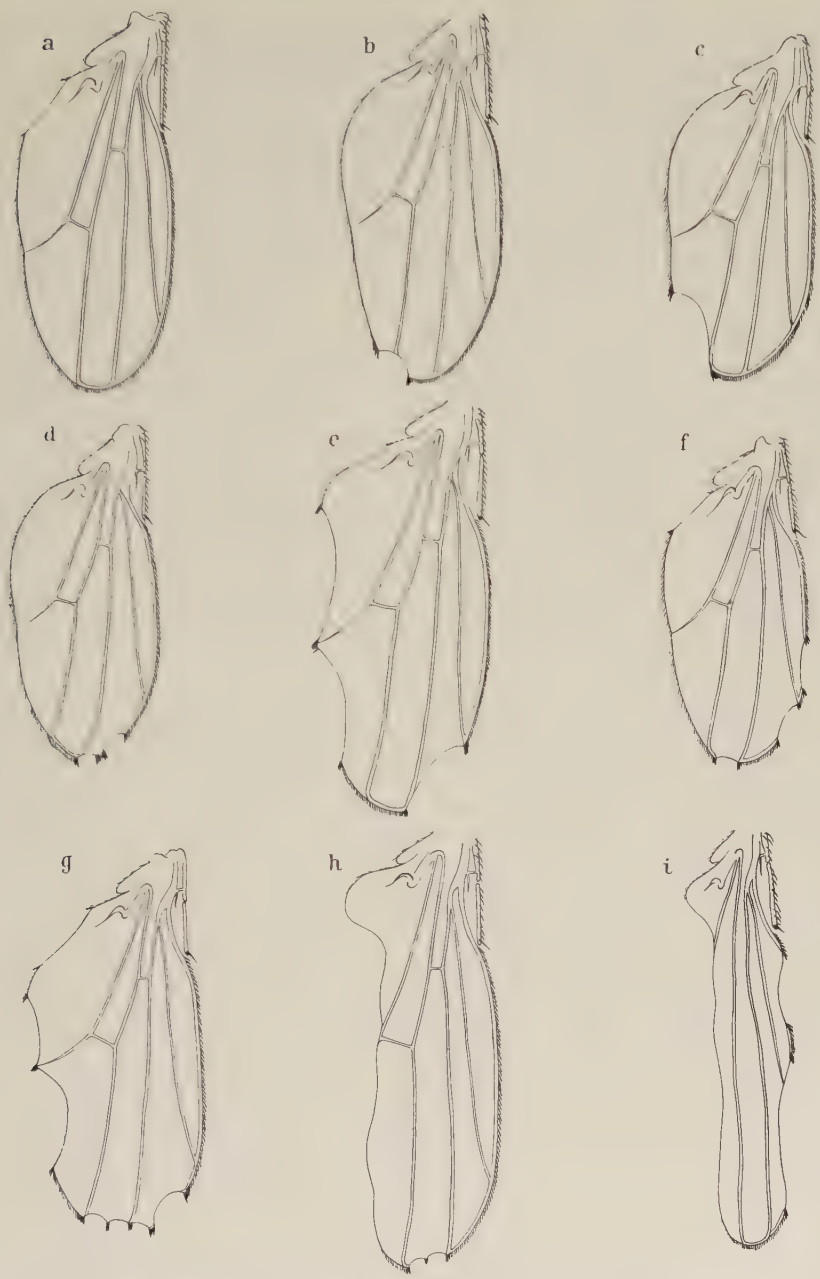


Abb. 2a—i. Expressivitätsstufen der Flügelkerbenmodifikation. a Schwächste Stufe, b u. c stärkere Stufen mit einzelnen Kerben, d—g Typen mit mehreren Kerben, h Stufe starken Defektes, mit fehlendem Flügelhinterteil, i stärkst betroffene Stufe, Flügelhinterrand fehlend, ebenso Vorderrand.

Nullpunkt. Die hier aufgezeichneten Werte gelten für die in unserem Falle übliche Zuchttemperatur von 27,5°. Es wurde in der Zusammenstellung nicht berücksichtigt, ob die Tiere ein- oder beidseitig, stark oder schwach betroffen waren. Parallel mit der Penetranz der Modifikation steigt und sinkt jedoch auch ihre Expressivität, d. h. unter den Tieren mit Behandlungsalter von 72 Std finden

sich die stärkst betroffenen, unter den im Alter von 52 oder 80 Std behandelten nur solche mit schwach und häufig nur einseitig ausgeprägtem Merkmal.

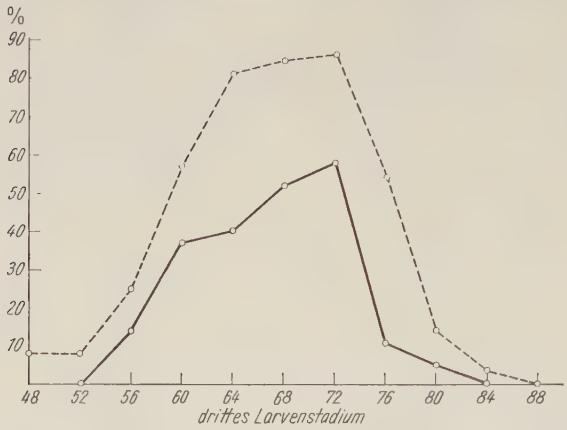


Abb. 3. Sensible Phase der *gk*-Modifikation nach NM-Behandlung. Abszisse: Larvenalter zur Zeit der Behandlung, angegeben in Stunden nach der Eiablage (Zuchttemperatur 27,5°). Ordinate: Modifikationshäufigkeiten in Prozent. ——— Modifikationshäufigkeiten bei 27,5°; — — — Modifikationshäufigkeiten bei 13° Zuchttemperatur nach der Behandlung.

Tabelle 2 gibt eine Zusammenstellung über die Schlüpfraten nach NM-Behandlung in den verschiedenen Altersstadien. Es wurden je Altersstufe 200 bis 300 Tiere zu je 100 oder 50 miteinander behandelt und aufgezogen und ihre Schlüpfraten, d. h. die Zahl der geschlüpften Fliegen bezogen auf die Zahl der behandelten Larven, notiert. Ebenso wurde der Prozentsatz derjenigen Tiere vermerkt, welche nach dem Schlüpfen die Flügel entfalteten, so daß die Kontrolle auf Flügelkerben möglich war.

Bei jüngeren Behandlungsstadien sind Schlüpfrate und Prozentsatz der Tiere mit entfalteten Flügeln sehr gering. Das ist zum Teil darauf zurückzuführen, daß das gleiche NM-Bad für eine kleine, dünnhäutige Larve des zweiten Stadiums einen ungleich viel stärkeren Eingriff bedeutet als für eine große stark chitinisierte Larve des dritten Stadiums. Außerdem spielt besonders in den jungen Behandlungsstadien die Modifikation der verkrüppelten Beine mit und drückt sowohl die Schlüpfrate als auch die Rate der Tiere mit entfalteten Flügeln stark hinunter. Nach Behandlung älterer Stadien ist die Schlüpfrate gegenüber den Kontrollen nur noch leicht vermindert; ebenso ist der Prozentsatz an Tieren mit entfalteten Flügeln nicht mehr stark gesenkt.

Tabelle 2. *Schlüpfraten und Prozentsatz an Tieren mit entfalteten Flügeln (auf gk beurteilbar) nach NM-Behandlung in verschiedenen Altersstadien (Altersangabe in Stunden nach Eiablage).*

Alter Std	a			b		
	Anzahl behandelte	Prozent geschlüpfte	Prozent mit entfalteten Flügeln	Anzahl behandelte	Prozent geschlüpfte	Prozent mit entfalteten Flügeln
48	300	21	4	300	12	4
52	350	17	3	200	35	12
56	200	71	33	200	22	12
60	200	87	43	200	69	37
64	200	82	78	200	81	69
68	200	92	73	200	78	66
72	200	83	76	200	65	54
76	200	90	58	200	82	78
80	200	74	70	200	78	70
84	200	89	65	200	79	70
88	200	94	68	200	72	64

a Zuchttemperatur 27,5°. b Zuchttemperatur 27,5°, nach der Behandlung 13°.

c) Die Temperaturabhängigkeit der Modifikation. Gegenüber einer ersten Versuchsserie, in der die behandelten Tiere nach dem NM-Bad bei 27,5° weitergezüchtet wurden, gelangten sie in einer weiteren Gruppe nach der Behandlung in eine Temperatur von 13° ± 1°.

Die Kurve der *gk*-Modifikationsraten verläuft dabei im Prinzip gleich wie in hoher Zuchttemperatur (Abb. 3, obere Kurve). Sie zeigt ebenfalls ein Maximum in der Mitte des dritten Larvenstadiums. Der maximale Prozentsatz an Modifikationen liegt aber wesentlich höher. Es wird eine Modifikationsrate von 86% erreicht gegenüber 58% bei Weiterzucht in hoher Temperatur. Entsprechend liegen für jedes Behandlungsalter die Prozentsätze an Modifikationen höher. Ferner beginnt die Empfindlichkeit für die *gk*-Modifikation früher und erlischt später als bei hoher Zuchttemperatur (48 bzw. 88 Std). Der höheren Penetranz der Modifikation bei tiefer Temperatur entspricht auch eine stärkere Expressivität des Merkmals bei Weiterzucht in Kälte.

Tabelle 3. *Modifikationsraten verschiedener Wildstämme nach NM-Behandlung 72stündiger Larven und Weiterzucht bei 13°.*

Stamm	Anzahl behandelte	Anzahl geschlüpfte	Anzahl mit entfalteten Flügeln	Anzahl gekerbte	Prozent gekerbte
Or	200	98	71	50	70
BI	100	43	39	33	85
B	100	55	46	33	72
Z	200	80	62	45	73
S	200	81	53	35	66
C	200	90	58	43	74
K	200	82	66	54	82

Schlüpfraten und Prozentsätze an Tieren mit entfalteten Flügeln sind etwas niedriger bei 13°, zeigen aber eine gleiche Abhängigkeit vom Behandlungsalter wie bei 27,5° (Tabelle 2).

d) Vorkommen der Modifikation bei anderen melanogaster-Stämmen. Bei Modifikationsversuchen muß geprüft werden, inwieweit das Vorkommen einer Modifikation durch genotypische Eigentümlichkeiten des verwendeten Stammes bedingt oder mitbedingt ist. In meinem Fall drängte sich eine derartige Kontrolle außerdem deswegen auf, weil im Laufe der hier beschriebenen Experimente eine Arbeit erschien, in welcher über eine NM-bedingte Flügelkerbenmodifikation berichtet wurde (Sanae Kaji und Masahiro Ogaki 1951). Jene Experimente wurden an einem *Oregon-wild*-Stamm von *Drosophila melanogaster* ausgeführt, und zwar mit der gleichen Substanz, wie ich sie verwendete, jedoch mit einstündiger Behandlung. Mit dieser intensiveren Behandlung wurde für gekerbte Flügel trotzdem nur eine Modifikationsrate von im Maximum 1,9% erreicht. Es liegt daher nahe, die Konstitution der verwendeten Stämme für die unterschiedliche Reaktion verantwortlich zu machen.

Um diese Interpretation zu prüfen, wurden gleichartige NM-Behandlungen an verschiedenen *melanogaster-wild*-Stämmen ausgeführt, und zwar an: *Oregon* (*Or*), *Berlin-Inzucht* (*BI*), *Berlin* (*B*), *Zürich* (*Z*), *Sevelen* (*S*), *Camargue* (*C*), *Kairo* (*K*)[1] bei möglichst einheitlichen Versuchsbedingungen (Behandlungstemperatur konstant 18°).

Die Reaktion der getesteten Stämme war überraschend einheitlich (Tabelle 3). Es besteht zwar eine gewisse Variabilität in bezug auf Schlüpfraten und Modifikationsraten, doch ist sie gering angesichts der von Kaji und Ogaki gefundenen Modifikationsrate von maximal 1,9%. Sowohl der *BI*-Stamm als auch der von mir geprüfte *Or*-Stamm bewegen sich bezüglich des Merkmals der gekerbten Flügel durchaus in ähnlichem Rahmen wie die übrigen geprüften Stämme, welche

[1] Der Or-Stamm war aus einer Zucht des Istituto di Genetica, Pavia, abgeleitet, die Stämme Z, S, C, K aus Wildfängen.

aus zum Teil geographisch weit voneinander getrennten Gebieten stammen und auch seit sehr verschieden langer Zeit in unserem Institut in Zucht gehalten werden.

Man wäre versucht, für die geringe Modifikationsrate an Flügelkerben im *Or*-Stamm von KAJI und OGAKI eine allgemein niedrigere Empfindlichkeit dieses Stammes gegenüber NM verantwortlich zu machen. Dies besonders, da auch die Rate der Augenmodifikationen, sowie die Gesamtmodifikationsrate im japanischen *Or*-Stamm niedriger sind als in den hier geprüften Stämmen. Diese Deutung macht aber Schwierigkeiten, da die Schlüpfraten behandelter Tiere im japanischen *Or*-Stamm eher geringer sind als in den hier geprüften Stämmen, eine Tatsache, die ihrerseits im Einklang stünde mit der längeren Behandlungsdauer, wie KAJI und OGAKI sie anwandten.

e) Kontrollversuche. Es wurde darauf verzichtet, zu jeder einzelnen Zuchtschale von Versuchstieren eine Schale mit Kontrolltieren anzusetzen; vielmehr wurden auf die ganze Dauer der Versuche verteilt Kontrolltiere aus dem *BI*-Stamm aufgezogen, die teils den gleichen Gelegen entstammten wie die Versuchstiere, teils andern. Nur ein Teil der Kontrolltiere wurde vollständig untersucht auf irgendwelche Abänderungen hin (Tabelle 1); bei einem andern Teil der Tiere wurden lediglich die Flügel geprüft. Die Kontrolltiere wurden entweder dauernd bei 27,5° gehalten oder sie wurden nach anfänglich hoher Zuchttemperatur (27,5°) vom mittleren dritten Larvenstadium an in eine Temperatur von 13° gebracht. Im ersteren Falle konnten gekerbte Flügel nie beobachtet werden (Tabelle 4), dagegen traten solche im letzteren Falle bei etwa 0,5% der Versuchstiere auf. Kältebehandlung allein vermochte also in einigen Fällen leichte Flügelkerben zu verursachen, wobei allerdings erwähnt werden muß, daß die 6 Fälle nicht zufallsmäßig verteilt, sondern zeitlich gehäuft in 4 Versuchsserien erschienen. Es wurde dadurch möglich, das genetische Verhalten solcher Kältekontrolltiere zu prüfen.

Es wurden zu Kontrollzwecken auch je 100 72stündige Larven von 5 Wildstämmen (*B*, *Z*, *S*, *C*, *K*) in Ringerlösung gebadet und bei 13° weitergezüchtet. In einem Falle entstand eine schwache Flügelkerbe (Stamm *B*).

Tabelle 4. *Kontrollversuche über das Auftreten von gekerbten Flügeln ohne NM-Behandlung beim BI-Stamm.*

Behandlung	Anzahl Fliegen		Anzahl Fliegen mit gekerbten Flügeln	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
Unbehandelt, 27,5°	355	326	0	0
72stündige Larven, gebadet, 27,5°	341	311	0	0
72stündige Larven, gebadet, 13°	633	505	4	2

5. *Genetische Prüfung der Flügelkerben-Modifikation.*

Es sollte geprüft werden, ob es sich tatsächlich bei allen Fällen von gekerbten Flügeln, d. h. bei den NM-bedingten wie auch bei den durch Kälte induzierten um Modifikationen, also um nichterbliche Veränderungen handle.

Zu diesem Zwecke wurden eine Anzahl durch NM-modifizierte Männchen und Weibchen gekreuzt. Die Mehrzahl der Zuchten waren steril. Unter den Nachkommen erfolgreicher Kreuzungen konnten lediglich normale Tiere gefunden werden, d. h. in allen diesen Fällen waren bei den Eltertieren die Flügelkerben

Tabelle 5. *Selektion auf das (gk)-Merkmal (a) und Selektion auf normale Flügelform (b).* Erläuterungen im Text.

Generation		Anzahl Tiere			Anzahl (*gk*)			Prozentsatz (*gk*)		
		♂♂	♀♀	Total	♂♂	♀♀	Total	♂♂	♀♀	Total
a	F_1	51	58	109	0	3	3	0	5	3
	F_2	84	81	165	2	11	13	2,5	13,5	8
	F_3	31	41	72	6	14	20	20	34	28
	F_4	40	46	86	20	32	52	50	70	60
	F_5	38	41	79	32	37	69	84	90	87
	F_6	40	59	99	38	59	97	95	100	98
	F_7	36	19	55	26	15	41	72	79	75
	F_8	36	34	70	36	34	70	100	100	100
	F_9	26	33	59	24	33	57	92	100	97
	F_{10}	27	36	63	27	36	63	100	100	100
	F_{11}	64	51	115	58	46	104	91	90	91
	F_{12}	46	49	95	46	49	95	100	100	100
	F_{13}	52	59	111	52	59	111	100	100	100
b	F_2	84	81	165	2	11	13	2,5	13,5	8
	F_3	87	73	160	0	5	5	0	7	3
	F_4	81	82	163	1	2	3	1	2,5	2
	F_5	32	30	62	1	1	2	3	3	3
	F_6	82	87	169	0	3	3	0	3,5	2
	F_7	49	58	107	0	2	2	0	3,5	2
	F_8	53	73	126	0	2	2	0	3	1,5
	F_9	30	37	67	2	1	3	6,5	3	4,5
	F_{10}	24	26	50	0	0	0	0	0	0
	F_{11}	62	66	128	0	0	0	0	0	0
	F_{12}	68	84	152	1	2	3	1,5	2	2
	F_{13}	70	72	142	0	0	0	0	0	0

rein modifikatorisch gebildet worden. Für die genetische Prüfung der kältebedingten Modifikation standen 6 Tiere zur Verfügung, die auf Kältebehandlung mit der Bildung von Flügelkerben reagiert hatten. Es wurden 2 der Weibchen mit den beiden Männchen gekreuzt, die übrigen 2 Weibchen mit normalen Männchen. Von den beiden inter se-Kreuzungen kältemodifizierter *gk*-Tiere ergab die eine ausschließlich normale Nachkommen; hingegen lieferte die andere einen geringen Prozentsatz von *gk*-Tieren in der F_1. Das genetische Verhalten solcher F_1-Tiere mit gekerbten Flügeln wurde in weiteren Versuchen verfolgt.

a) Selektionsexperiment. Ein Selektionsversuch wurde über 13 Generationen in Einzelpaarzucht bei 25° durchgeführt (Tabelle 5 a). Es wurden dabei jeweils stärkst betroffene (*gk*)[1]-Männchen und Weibchen miteinander gekreuzt und zur Weiterzucht immer Nachkommen desjenigen Elterpaares benützt, das den höchsten Prozentsatz an (*gk*)-Tieren geliefert hatte. In der F_1 standen nur (*gk*)-Weibchen zur Verfügung. In diesem einen Fall wurden normale Männchen derselben Zucht zur Kreuzung verwendet. Die Selektion führte zu einem rapiden Anstieg der Häufigkeit von (*gk*) in den ersten 6 Generationen und anschließend zu einer allmählichen Konsolidierung der Penetranz auf 100%. Die Weibchen waren bis zur 7. Generation häufiger Merkmalsträger als die Männchen. Gleichzeitig wurde ein Selektionsversuch in entgegengesetztem Sinne, d. h. auf normale Flügelform durchgeführt, ebenfalls in Einzelpaarzucht und bei 25°.

[1] Da, wie später (S. 243) gezeigt werden soll, an der Bildung des (*gk*)-Merkmals mehrere Faktoren beteiligt sind, soll dafür die Bezeichnung (*gk*) eingeführt werden, um Verwechslungen mit einem einfach mendelnden Merkmal auszuschließen.

Diesmal aber wurden, ausgehend von der F_2, immer kerbenlose Tiere ausgewählt, die immer aus der Zucht von Eltern mit geringster (*gk*)-Häufigkeit unter den Nachkommen stammten (Tabelle 5 b). Diese negative Selektion scheint langsamer zu verlaufen als die Selektion auf (*gk*), und es ist bemerkenswert, daß zur vollständigen Elimination des Merkmals aus einer Population eine ähnliche Zahl von Generationen erforderlich ist, wie benötigt wird, um das Merkmal zu

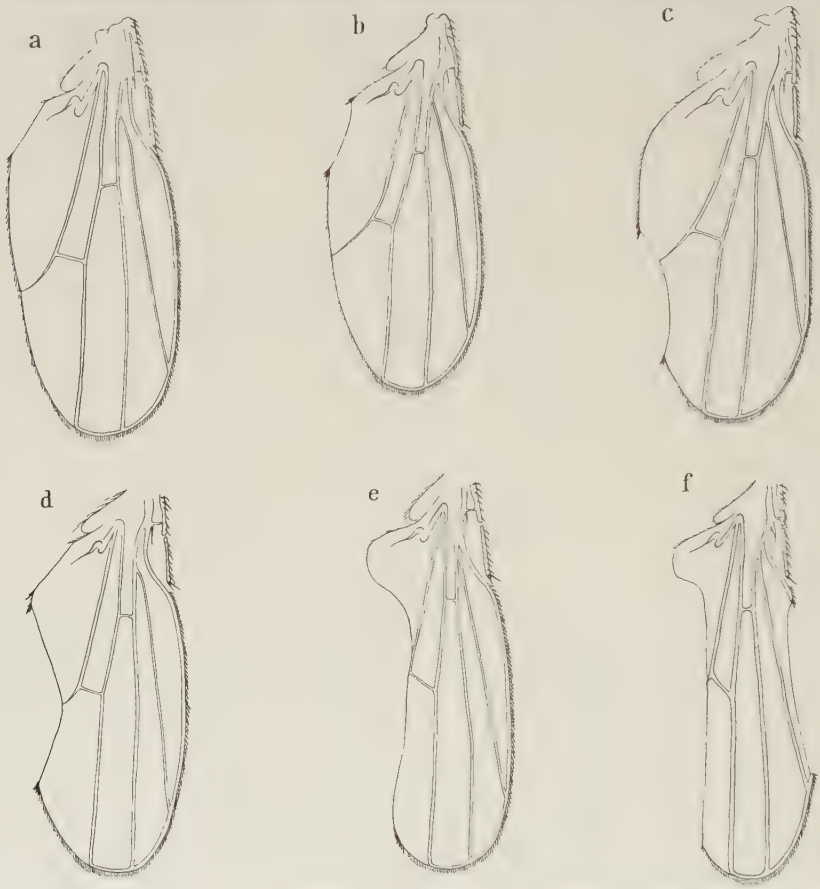


Abb. 4a—f. Angriffsmuster des genetischen (*gk*)-Merkmals; a Schwächste Stufe, b—d zunehmend stärker betroffene Typen, e Expressivitätsstufe bei 100 %iger Penetranz des Merkmals, f nicht regelmäßig auftretender stärkst betroffener Typus mit fehlendem Flügelvorderrand.

100 %iger Penetranz zu bringen, auch wenn man in beiden Fällen von derselben Population mit geringer Merkmalshäufigkeit ausgeht.

Abb. 4 zeigt verschiedene Typen von (*gk*)-Flügeln, wie sie im Verlaufe des Selektionsexperimentes auftraten. Der geringen Penetranz des Merkmals in den ersten Generationen entsprechen die Stufen schwacher Expressivität (Abb. 4a und b). In späteren Generationen wurden die Stufen c und d durchlaufen. Bei 100 %iger Penetranz des Merkmals treten nur noch die Typen e und f auf, Stufe f jedoch selten. Kreuzt man ein Tier des Stammes mit 100 %ig penetrantem (*gk*)-Merkmal mit einem normalen Tier des *BI*-Stammes, so treten anfänglich wiederum nur schwache Kerben bei wenigen Tieren auf. Selektion auf hohe Penetranz und starke Expressivität führt auch hier zum Ziel.

Es fällt auf, daß die Varianten des genetischen (*gk*)-Merkmals auch unter den modifikationsbedingten auftreten (vgl. Abb. 2 und 4); daß jedoch beim genetischen Merkmal die Variabilität des Angriffsmusters kleiner ist als beim modifikatorischen; eine Erscheinung, die auch gegenüber anderen Flügelkerbenmutationen Gültigkeit hat (S. 236).

b) Kreuzungsversuche. Das Selektionsexperiment ließ bereits eine polyfaktorielle genetische Grundlage des (*gk*)-Merkmals vermuten. Nachdem durch Selektion eine Penetranz des Merkmals von 100% erreicht worden war, konnten Kreuzungsexperimente angesetzt werden. In einem ersten Versuch wurden Tiere des (*gk*)-Stammes mit solchen des *BI*-Stammes und solchen des *Or*-Stammes gekreuzt; dann wurden Tiere der F_1-Generation mit solchen des (*gk*)-Stammes rückgekreuzt, nach folgendem Schema:

P: (*gk*)/(*gk*) × +/+ (+/+ = *BI*/*BI* oder *Or*/*Or*)
F_1: (*gk*)/+ Rückkreuzung: (*gk*)/+ × (*gk*)/(*gk*)

Alle Kreuzungen wurden auch reziprok angesetzt. Aus den Versuchsergebnissen ist zu schließen, daß das Merkmal, wenn es in den *OR*-Stamm (Tabelle 6) eingekreuzt wird, sich rezessiv verhält. Wird es dagegen in den *BI*-Stamm eingekreuzt, treten bereits in der F_1 gekerbte Flügel auf. Hier verhält sich das Merkmal unvollständig dominant. Die reziproken Kreuzungen lieferten übereinstimmende Werte. Der Erbgang ist nicht geschlechtsgekoppelt. Es fällt jedoch auf, daß hier, wie bei den Selektionsversuchen (Tabelle 5) die Weibchen häufiger Merkmalsträger sind als die Männchen. In den Rückkreuzungen sind Zahlenverhältnisse, wie man sie für ein einfach mendelndes Merkmal fordern müßte, nicht verwirklicht. Wiederum scheint es ohne Einfluß zu sein, ob die verwendeten Männchen oder die Weibchen der F_1 bzw. der (*gk*)-Zucht entstammten. Ebenso unwichtig ist

Tabelle 6. *Häufigkeiten des (gk)-Merkmals in der F_1 und in Rückkreuzungen nach Auskreuzung des (gk)-Stammes mit BI und Or.*

Kreuzung	Anzahl Fliegen			(*gk*)-Tiere			Prozentsatz an (*gk*)-Tieren		
	♂♂	♀♀	Total	♂♂	♀♀	Total	♂♂	♀♀	Total
BI × (*gk*)	400	461	861	3	16	19	0,75	3,40	2,20
(*gk*) × *BI*	271	259	530	0	12	12	0,00	4,60	2,26
	671	720	1391	3	28	31	0,45	3,88	2,23
Or × (*gk*)	326	320	646	—	—	—	—	—	—
(*gk*) × *Or*	287	278	565	—	—	—	—	—	—
	613	598	1211	—	—	—	—	—	—
BI/(*gk*) × (*gk*)/(*gk*)	743	798	1541	130	235	365	17	29	24
(*gk*)/(*gk*) × *BI*/(*gk*) [1]	230	265	495	42	65	107	18	25	22
(*gk*)/(*gk*) × *BI*/(*gk*) [1]	394	401	795	49	92	141	13	23	18
	1367	1464	2831	221	392	613	16	27	22
Or/(*gk*) × (*gk*)/(*gk*)	506	515	1021	79	131	210	16	25	21
(*gk*)/(*gk*) × *Or*/(*gk*) [1]	351	334	685	68	97	165	19	29	24
(*gk*)/(*gk*) × *Or*/(*gk*) [1]	199	187	386	28	47	75	14	25	19
	1056	1036	2092	175	275	450	17	27	21

[1] Die beiden Kreuzungen unterscheiden sich darin, daß die Männchen entweder das X- oder das Y-Chromosom aus dem (*gk*)-Stamm mit sich führen.

es, welche der beiden reziproken Parentalgenerationen die F_1 lieferte, der die Männchen zur Rückkreuzung entnommen worden waren. Also kann weder das *X*-Chromosom noch das *Y*-Chromosom einen für das Merkmal in der Hauptsache verantwortlichen Faktor tragen. Trotz unterschiedlicher Manifestationshäufigkeit in der F_1 finden wir für die Rückkreuzungen mehr oder weniger übereinstimmende Werte für *BI* und *Or*, möglicherweise ging der Unterschied durch Zufallsschwankungen verloren.

In weiteren Kreuzungsversuchen (Tabelle 7) wurde untersucht, ob die (*gk*)-Faktoren vorzugsweise oder ausschließlich in einem der großen Autosomen lokalisiert sind. Zur Prüfung des zweiten Chromosoms diente die folgende Kreuzung:

P: $L^2/Cy \times (gk)/(gk)$
F_1: $L^2/(gk)$ und $Cy/(gk)$ Kreuzung: $Cy/(gk) \times L^2/(gk)$
F_2: L^2/Cy; $L^2/(gk)$; $Cy/(gk)$; $(gk)/(gk)$

Da unter den Tieren der Konstitution $(gk)/(gk)$ sehr viel mehr Merkmalsträger als unter den übrigen Genotypen auftreten, ist zu schließen, daß bestimmte Faktoren oder ein bestimmter Faktor des zweiten Chromosoms für die Merkmalsbildung verantwortlich ist (Tabelle 7).

Tabelle 7. *Einfluß der Chromosomen II und III auf die Manifestation des (gk)-Merkmals.* Erklärungen im Text.

	Genotypus	Anzahl Tiere	Anzahl (*gk*)-Tiere	Prozent (*gk*)-Tiere
Chromosom II	$(gk)/(gk)$	473	264	56
	$L^2/(gk)$	411	20	5
	$Cy/(gk)$	430	19	4,5
	L^2/Cy	401	4	1
Chromosom III	$(gk)/(gk)$	325	133	41
	$DSb/(gk)$	497	118	24

Für die Prüfung von Faktoren des dritten Chromosoms stand lediglich ein Stamm mit nur einem dominant markierten dritten Chromosom zur Verfügung. Folgende Kreuzungen wurden angesetzt:

P: $DSb/e(CL\text{-}CR) \times (gk)/(gk)$
F_1: $DSb/(gk)$; $e(CL\text{-}CR)/(gk)$
Rückkreuzung: $DSb/(gk) \times (gk)/(gk)$ und reziprok

Die Resultate unter Weglassung der cross-over-Tiere sind ebenfalls in Tabelle 7 dargestellt. Sofern beide dritten Chromosomen von (*gk*)-Herkunft sind, ist die Manifestationsrate deutlich höher als wenn eines der Chromosomen substituiert worden ist. Obschon der Unterschied nicht so bedeutend ist wie im Falle des zweiten Chromosoms, darf doch geschlossen werden, daß einer oder mehrere Faktoren des dritten Chromosoms an der Merkmalbildung mitbeteiligt sind. Die genannten Kreuzungen wurden wiederum reziprok und unter Berücksichtigung des Geschlechtsverhältnisses durchgeführt, doch kann auf eine entsprechende Darstellung verzichtet werden. Der Einfluß des vierten Chromosoms wurde nicht untersucht.

c) Diskussion. Es bleibt nun die Frage zu diskutieren, wie man das parallele Vorkommen des modifikatorischen und des genetisch bedingten *gk*-Merkmals

erklären kann. Es sei folgende Denkmöglichkeit skizziert: Die genetische Konstitution des *BI*-Stammes war so, daß sie in vielen Fällen schon sehr nahe der phänotypischen Manifestationsschwelle lag, unter normalen Bedingungen aber in keinem einzigen Fall zur Manifestation des Merkmals ausreichte (keine Flügelkerben bei Kontrolltieren in normaler Zuchttemperatur). Durch die NM-Behandlung wurde auf irgendeine Weise die Merkmalsbildung erleichtert (Modifikation der gekerbten Flügel). Viele Tiere, deren genetische Konstitution unter normalen Bedingungen nicht ausgereicht hätte zur Manifestation des Merkmals, konnten es nun ausbilden. Zusätzliche Kälteeinwirkung auf NM-behandelte Tiere führte zu einer zusätzlichen Erleichterung der Manifestation (größere Penetranz der Modifikation bei Weiterzucht in Kälte). Kältebehandlung allein wirkte in derselben Richtung, nur wurde die Durchschlagskraft des Merkmals nicht in dem Maße gefördert wie nach NM-Behandlung. Aus diesem Grunde genügte nur bei einigen wenigen Individuen ihre genetische Beschaffenheit zur Manifestation des Merkmals. Kältebehandlung allein machte die paar wenigen Tiere sichtbar, deren genetische Konstitution ganz besonders günstig war zur Ausbildung des (*gk*)-Merkmals. Durch dieses Sichtbarwerden wurde es möglich, besonders günstig konstituierte Individuen auszuwählen. Wenn unter normalen Bedingungen solche Genotypen phänotypisch nicht erkennbar werden, können sie natürlich nicht zur Weiterzucht ausgewählt werden. Die Wahrscheinlichkeit, daß man zufällig 2 günstig konstituierte Tiere miteinander zur Kreuzung ansetzt, ist äußerst gering. Es ist nämlich zu berücksichtigen, daß nicht alle Tiere, die eine relativ günstige Konstitution aufweisen (Flügel nach Kältebehandlung gekerbt), diese, wenn sie unter Normalbedingungen weitergezüchtet werden, bei ihren Nachkommen auch durchsetzen können. Kreuzungen zwischen NM-behandelten Tieren mit Flügelkerben, die nur normale Nachkommen liefern, wären in dem Sinne zu deuten, daß diese Tiere nur dank der NM-Behandlung Flügelkerben ausbilden konnten. Unter normalen Bedingungen, oder auch bei Kältebehandlung allein, wäre ihre genetische Konstitution dazu nicht „stark“ genug gewesen. Ähnliches wäre zu vermuten im Falle einer Kreuzung zwischen 2 kältebehandelten Tieren mit Manifestation des (*gk*)-Merkmals, welche ebenfalls nur normale Nachkommen lieferte. Es ist auch anzunehmen, daß genetisch günstige Konstitutionen der Eltern durch Rekombination verlorengehen. Ausnahmsweise würde jedoch die Konstitution beider Eltertiere so nahe der Manifestationsschwelle liegen und sich auch so günstig kombinieren, daß ein Teil der F_1-Nachkommen das Merkmal auszubilden vermochten.

Die hier skizzierten Gedankengänge lehnen sich an Vorstellungen Waddingtons (1952) an, welcher durch Hitzebehandlung und durch fortwährende Selektion, kombiniert mit Wiederholung der Behandlung, das betreffende Merkmal schließlich spontan erhielt. Im Prinzip geschah in den hier beschriebenen Versuchen genau das gleiche wie in denen von Waddington. Durch Veränderung des Milieus wurden bestimmte genetische Konstitutionen phänotypisch sichtbar gemacht und durch dieses Sichtbarmachen wurden erst Angriffspunkte für eine Selektion geschaffen. In meinem Fall lag die genetische Konstitution schon sehr nahe der phänotypischen Manifestationsschwelle, so daß eine einmalige Änderung des Milieus genügte, um dem Merkmal auch in späteren Generationen in völlig „normalem Milieu“ zum Durchbruch zu verhelfen, während in den

Versuchen von WADDINGTON mehrmaliges Phänokopieren und Selektionieren notwendig war, da die genetische Beschaffenheit seines Stammes anfänglich offenbar weit unter der phänotypischen Manifestationsschwelle lag.

Auch bei früheren Phänokopieversuchen erwiesen sich bei genauer Kontrolle gelegentlich einzelne „Modifikationen" als erblich. So hat schon V. JOLLOS (1933) einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Modifikationen, Dauermodifikationen und Mutationen festgestellt: „Entstehen unter bestimmten Veränderungen der Außenwelt, die überhaupt Mutationen auslösen, bestimmte phänotypische Veränderungen der behandelten Generationen regelmäßig, so können wir auch entsprechende Mutanten nach häufig wiederholter gleichartiger Einwirkung mit hoher Wahrscheinlichkeit erwarten." Man würde diese Tatsache nicht mehr als „Parallelinduktion" deuten, sondern annehmen, daß solche Veränderungen durch äußere Einflüsse besonders häufig und regelmäßig auslösbar sind, für welche bereits die genetischen Bedingungen latent im Stamme vorhanden sind. Auch in den ausgedehnten Phänokopieversuchen GOLDSCHMIDTS (1935) erwiesen sich einige „Modifikationen" als Mutationen. Es wird dort die Erklärung eines „Dominanzwechsels" durch Hitze gegeben, also ebenfalls eine bereits latent vorhandene, genetische Bereitschaft zur Merkmalsbildung angenommen.

Es ist bemerkenswert, daß auch andere Stämme als der *BI*-Stamm hohe Modifikationsraten für gekerbte Flügel aufweisen (Tabelle 3). Vermutlich könnten auch aus diesen Stämmen Linien mit (*gk*)-Merkmal herausselektioniert werden, denn eine latente (*gk*)-Konstitution scheint unter den verschiedenen *Drosophila*-Stämmen verbreitet zu sein. In dieser Richtung weisen einerseits das häufige Auftreten von Mutationen, welche Flügelkerben verursachen, wie andererseits auch das gelegentliche Auftreten und Wiederverschwinden von Flügelkerben in „normalen" *wild*-Stämmen (BRAUN 1940).

6. Behandlung von Imaginalscheiben mit NM.

Es muß mit sekundären Wirkungen des NM gerechnet werden, wenn man das Tier als ganzes einer Behandlung unterzieht. Um solche Einflüsse auszuschließen, ist eine „in vitro"-Behandlung einzelner Organanlagen mit nachfolgender Transplantation unternommen worden.

a) Material und Methodik. Da sich zu Transplantationsversuchen in erster Linie Imaginalscheiben eignen und da sich bei Behandlung ganzer Tiere gezeigt hatte, daß vor allem diese Primordien durch den NM in Mitleidenschaft gezogen werden, lag eine „in vitro"-Behandlung von Imaginalscheiben auf der Hand. Gewählt wurde die Genital-Imaginalscheibe, weil sie viele und einzeln gut erfaßbare imaginale Strukturen liefert, die meist mit Sicherheit identifiziert werden können. Die Genitalscheibe hat außerdem den Vorteil, daß ihre Leistungen im normalen Transplantat gut bekannt sind, ebenso ihre eventuellen regulativen Leistungen und ihre Gliederung in Felder, von denen jedes einer bestimmten imaginalen Struktur zugeordnet werden kann (HADORN und GLOOR 1946, HADORN, BERTANI und GALLERA 1949).

Behandlung. Genital-Imaginalscheiben wurden aus Larven im Alter von 72 Std herauspräpariert und in *Drosophila*-Ringerlösung gebracht. Dort verblieben sie für höchstens 2 Std, dann wurden sie für 15 min in eine NM-Lösung gebracht, deren Konzentration zwischen 0,001% und 0,01% variiert wurde. Anschließend wurden die Scheiben in Ringerlösung gewaschen und in 70 Std alte Larven transplantiert. 2—3 Tage nach dem Schlüpfen der Imagines wurden die transplantierten Geschlechtsapparate herausseziert und mikroskopisch untersucht, in der Regel nach Fixierung in Carnoy und Färbung in Hämalaun.

Kontrollierte Strukturen. Ein Teil der berücksichtigten Strukturelemente wurde nur auf Vorhandensein oder Fehlen kontrolliert, bei einigen andern wurden Messungen ausgeführt, da sich die rein qualitative Beurteilung auf Vorhandensein oder Fehlen eines Organs als ungenügend erwies. Zu Meßzwecken eignen sich chitinisierte Strukturelemente, da sie durch die Präparation keine Veränderung ihrer Größe erfahren. Es wurden im weiblichen Genitalapparat die Durchmesser der beiden Spermatheken gemessen; im männlichen Geschlechtsapparat die

Länge der Tragplatte des Penis und auch die Länge der Samenpumpe. Außerdem wurde die Anzahl Borsten für Anal- bzw. Vaginal- oder Medialplatte als Grundlage für die quantitative Erfassung der Plattengröße herangezogen, da direkte Messungen infolge der häufig ungünstigen und unterschiedlichen Lage der Platten in den Präparaten undurchführbar waren.

Bei den männlichen Imaginalscheiben wurden folgende Teile des Geschlechtsapparates berücksichtigt (Abb. 5 a): *Ductus ejaculatorius, Tragplatte des Penis, Vasa deferentia, Paragonien, Medialplatten (= claspers), Analplatten.*

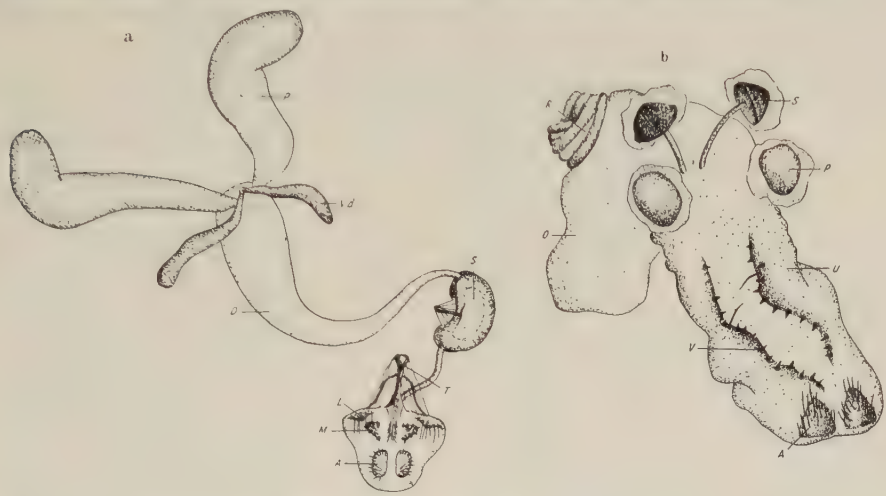


Abb. 5a u. b. Transplantierte, imaginal differenzierte Geschlechtsapparate unbehandelter Kontrollen. a Männlicher Geschlechtsapparat, *V. d.* Vas deferens, *P* Paragonium, *D* Ductus ejaculatorius, *S* Samenpumpe, *T* Tragplatte des Penis, *M* Medialplatte (clasper), *A* Analplatte, *L* Lateralvalve; b weiblicher Geschlechtsapparat, *O* Oviduct, *U* Uterus, *R* ventrales Receptaculum, *S* Spermatheke, *P* Parovarium, *V* Vaginalplatte, *A* Analplatte.

Unter den Organen der weiblichen Transplantate wurde folgende Auswahl getroffen (Abb. 5b): *Oviduct, Uterus, Receptaculum seminis, Spermatheken, Parovarien, Vaginalplatten, Analplatten.*

b) Kontrollen. Da die Prozedur der Transplantation allein schon eine Veränderung in den normalen Leistungen der Imaginalscheibe bedingen könnte, müssen zu Vergleichszwecken ebenfalls transplantierte Geschlechtsapparate herangezogen werden. Diese Kontrolltransplantationen wurden, abgesehen von der NM-Behandlung, genau gleich ausgeführt wie die Versuchstransplantationen. Die Scheiben lagen nach dem Herausszieren einige Zeit in Ringerlösung und wurden dann implantiert. Die Wirtstiere hatten das gleiche Alter wie die Wirtstiere der Versuchsserien. Die Resultate der Kontrollserien finden sich zusammen mit den Ergebnissen der Versuchsserien in den Tabellen 8 und 9.

c) Resultate. Von insgesamt 204 transplantierten Imaginalscheiben konnten nur 67 (31 männliche und 36 weibliche) Geschlechtsapparate ausgewertet werden. Die hohe Verlustrate ist teils bedingt durch die Sterblichkeit der Wirtstiere, außerdem aber auch durch das Absterben von transplantierten Scheiben in den Wirtstieren. Im Gegensatz zu den Kontrollen findet man bei den NM-Versuchen sehr häufig metamorphosierte Wirte, die kein Transplantat mehr enthalten oder solche, in deren Abdomen nur unstrukturierte braun-schwarze Einschlüsse liegen. Besonders unter den mit hohen NM-Konzentrationen behandelten Scheiben sind derartige Verluste sehr groß. Zusätzlich gibt aber diese Erscheinung

der bis zur Letalität geschädigten Gewebe die Gewißheit, daß mit der gewählten Behandlung die obere Grenze der überhaupt anwendbaren Dosis erreicht wurde.

Die Befunde über Vorhandensein bzw. Fehlen einzelner Strukturen sind in Tabelle 8 zusammengefaßt. Die Zahlen geben an, wie viele Organe je Geschlechtsapparat im Durchschnitt ausgebildet wurden. Außerdem wurden die Leistungen behandelter Scheiben, ausgedrückt in Prozenten der Leistungen von Kontrollscheiben, angeführt. Für die unpaaren Organe finden wir bei den Kontrollscheiben durchwegs Zahlen von 1,00, d. h. in jedem Geschlechtsapparat wurde ein und nur ein unpaares Organ gebildet, was durchaus den Erwartungen entspricht. Bei den behandelten Scheiben wurden durchschnittlich mehr Penistragplatten gebildet (1,06). Die Erhöhung dieses Durchschnittswertes beruht auf 2 Fällen von Doppelbildungen, die wohl auf Versuchsfehler zurückzuführen sind; durch Verletzung eines Imaginalscheibenfeldes kann dieses zu regulativen Mehrfachleistungen angeregt werden (HADORN, BERTANI und GALLERA 1949). Der Ductus ejaculatorius zeigt durchschnittlich eine geringe Reduktion, die durch einen einzigen Fall von fehlendem Ductus (samt fehlenden Vasa deferentia, Paragonien und Samenpumpe) bedingt ist. Grob quantitativ gesehen finden wir unter den unpaaren Strukturelementen weder bei Männchen noch bei Weibchen veränderte Leistungen behandelter Scheiben gegenüber unbehandelten. Die Primordien dieser Organe befanden sich im Zeitpunkt der Behandlung in einer nicht NM-empfindlichen Phase, oder zumindest erwiesen sie sich als unempfindlich gegenüber den angewendeten Dosen.

Tabelle 8. *Differenzierungsleistungen NM-behandelter Genital-Imaginalscheiben nach Transplantation in normale Wirte, verglichen mit unbehandelten Kontrolltransplantaten.*

	Behandelte	Kontrollen	Leistung %
Unpaare Organe.			
Männchen, 31 Fälle:			
Ductus ejaculatorius . .	0,97	1,00	97
Samenpumpe	1,00	1,00	100
Tragplatte des Penis . .	1,06	1,00	106
Weibchen, 36 Fälle:			
Oviduct und Uterus . .	1,00	1,00	100
Receptaculum seminis .	1,00	1,00	100
Paarige Organe.			
Männchen, 31 Fälle:			
Vasa deferentia	1,20	1,62	73
Paragonien	1,20	1,62	73
Medialplatten	1,74	2,00	87
Analplatten	1,28	1,88	67
Weibchen, 36 Fälle:			
Spermatheken	1,76	1,93	82
Vaginalplatten	1,56	1,94	80
Analplatten	1,48	2,00	74

Anders fallen die Resultate für die paarigen Organe aus. Infolge nicht genauer analysierbarer Operationsschädigungen leisten auch Kontrolltransplantate nicht gleich viel, wie sie „in situ" leisten würden. Es finden sich nur für 2 Elemente durchschnittlich 2 Organe je Tier. Alle übrigen Organe sind leicht reduziert. Bei behandelten Scheiben ist jedoch diese Reduktion für alle Elemente ausgeprägt und deutlich stärker als bei den Kontrollscheiben; betragen doch die Leistungen behandelter Scheiben nur zwischen 67% und 87% der Leistungen transplantierter unbehandelter Kontrollscheiben. Bei Männchen und Weibchen sind die Minderleistungen ungefähr gleich ausgeprägt. Die Anlagen dieser paarigen Strukturelemente befinden sich offensichtlich zur Behandlungszeit in einer NM-empfindlichen Phase.

In Tabelle 9 sind die Resultate der Messungen an den verschiedenen Strukturen zusammengestellt. Die Zahl der gemessenen Kontrollen ist zwar klein, jedoch ausreichend, da die Streuung sehr gering ist, und da außerdem die Durchschnittswerte sich durchaus im Rahmen der von HADORN und Mitarbeitern gefundenen Werte halten. Die Zahl der gemessenen Penistragplatten ist deshalb geringer als die der übrigen gemessenen Strukturen, weil die relativ häufigen gekrümmten Elemente nicht verwendet werden konnten. Die Werte für die Zahl der Borsten je Platte sind nur bei günstiger Lage der Platten im Präparat eindeutig feststellbar. Für ungünstig liegende Platten wurde eine approximative Zählung vorgenommen. Der Fehler der Zählungen beträgt jedoch für entsprechende Versuche nach Angaben von HADORN und Mitarbeitern höchstens 2 4 Borsten, und auch eine eigene Nachzählung bei Stichproben ergab nicht größere Fehler.

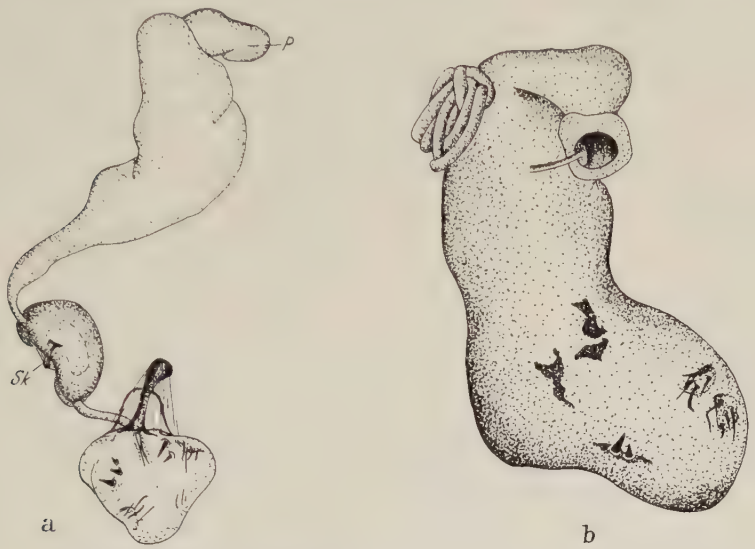


Abb. 6a u. b. Transplantierte Geschlechtsapparate NM-behandelter Tiere; stark geschädigte Exemplare. Bezeichnungen wie Abb. 5. a Männlicher Geschlechtsapparat. Samenpumpe mit geschädigtem Sklerit (*Sk*). Tragplatte des Penis verkrümmt. Wenige Medialplattenborsten. Einzelne Analplatte mit wenigen Borsten. b Weiblicher Geschlechtsapparat. Nur eine Spermatheke und kein Parovarium ausgebildet. Vaginalplatten fehlend oder reduziert. Analplatten verkleinert, mit wenigen Borsten. Dunkle Einschlüsse (nekrotisches Gewebe).

In Tabelle 9 sind wiederum Durchschnittswerte eingetragen, außerdem wiederum die Leistung behandelter Scheiben in Prozenten der Leistungen unbehandelter Transplantate. Da durch Ausfall oder abnorme Bildung einzelner Organe die Durchschnittswerte aus verschiedenen Anzahlen berechnet werden mußten, ist jeweils die Zahl der gemessenen Elemente angegeben.

Tabelle 9 zeigt, daß Samenpumpe und Tragplatte des Penis im männlichen Genitalapparat etwas verkleinert sind. In ähnlichem Rahmen hält sich beim Weibchen die Verkleinerung von Spermatheken aus behandelten Scheiben gegenüber solchen aus unbehandelten. Für die Borstenzahlen ergaben sich stärkere Reduktionen. Bei der Interpretation dieses Befundes muß berücksichtigt werden, daß NM-Behandlung die Borstenbildung selektiv hemmt (vgl. S. 233). Es können also diese Werte nicht als direktes Maß für die Reduktion der betreffenden Skeletelemente gelten. Immerhin zeigte sich in den Fällen, wo Schätzungen möglich waren, daß bei starker Reduktion der Borstenzahl auch die betreffenden Platten verkleinert waren. Oft werden keine eigentlichen Platten mehr gebildet.

Tabelle 9. *Differenzierungsleistungen NM-behandelter Genital-Imaginalscheiben nach Transplantation in normale Wirte, verglichen mit unbehandelten Kontrolltransplantaten; quantitative Beurteilung der Strukturen.*

	Größe in μ		Leistung	Anzahl gemessener Elemente	
	behandelt	Kontrollen	%	behandelt	Kontrollen
Männchen:					
Länge der Samenpumpe	281	341	82	31	8
Länge der Penistragplatte	206	240	86	19	8
Weibchen:					
Spermatheken	63	73	86	34	16

	Borstenzahl je Platte		Leistung	Anzahl ausgewertete	
	behandelt	Kontrollen	%	behandelt	Kontrollen
Männchen:					
Medialplatten	11,7	20,0	58	53	16
Analplatten	13,1	36,0	36	39	14
Weibchen:					
Vaginalplatten	6,5	12,6	51	40	27
Aanalplatten	8,3	13,3	63	34	28

Aus den Transplantationsversuchen geht hervor, daß NM-Behandlung lediglich zu verminderten Leistungen, nie zu irgendwelchen regulativen Mehrleistungen führt, wie man sie von Fragmentations- und Bestrahlungsexperimenten an Imaginalscheiben kennt (HADORN, BERTANI und GALLERA 1949, WADDINGTON 1942). Die Minderleistungen betrafen sowohl den Geschlechtsapparat als ganzes (Ausfall einzelner Organe), als auch seine einzelnen Bestandteile (Reduktion von Organen). Bestimmte Organe sind von der Schädigung nicht betroffen (unpaare Organe der Männchen und Weibchen, vgl. Tabelle 8).

Die Borstenbildung ist gestört sowohl nach Behandlung ganzer Tiere als auch nach Behandlung von Organen „in vitro". Die Schädigung zeigt sich im Ausfall von Borsten und im Auftreten von besonders großen, dicken oder verkrümmten Borsten. Verschiedene Entwicklungsstörungen traten mehrmals nach Behandlung auf, keine aber derart regelmäßig, daß sie als charakteristische Modifikation bezeichnet werden könnte. Am häufigsten waren Verkrümmungen der Penistragplatte; auch verkrümmte Sklerite der Samenpumpe fanden sich gelegentlich. Beim Weibchen war vor allem eine große Variabilität in der Spermathekenform auffällig. Neben fast normalen Formen fanden sich oft kugelige, aber auch abgeflachte Gebilde (Abb. 7).

d) Diskussion. BODENSTEIN (1947b, 1948a, b, 1954) hat in Experimenten an Amphibien zeigen können, daß nach NM-Behandlung die Teilungsfähigkeit der Zellen unterbunden wird, während Differenzierungsvorgänge normal ablaufen. Dieses Wirkungsprinzip auf die Verhältnisse bei *Drosophila* angewandt würde bedeuten, daß als Folge der Mitosehemmung aus behandelten Scheiben verkleinerte normal gestaltete Organe hervorgehen müßten. Das Material der Tabellen 8 und 9 bestätigt diese Voraussage. Das Fehlen einzelner Strukturelemente braucht nicht notwendigerweise auf einer Differenzierungshemmung zu beruhen. Man kann die Tatsache auch folgendermaßen deuten: damit überhaupt ein Organ gebildet werden kann, muß ein minimales Quantum an Zellen zur Verfügung stehen. Wird diese minimale Zellzahl überschritten, wird ein

Organ gebildet, und zwar ein normal großes, wenn die normale Zellzahl erreicht wird, andererseits ein verkleinertes, wenn die zur Verfügung stehende Zellzahl zwischen dem minimalen und dem normalen Wert liegt. Die Fälle vorhandener normal großer oder verkleinerter Organe wären hier einzureihen. Wird hingegen das „Zellminimum" unterschritten, kann überhaupt kein Organ gebildet werden. Dieser Fall trat bei den paarigen Organen relativ häufig ein; bei unpaaren wirkte sich aus unbekannten Gründen die Schädigung niemals derart stark aus. Auch die Hemmung der normalen Borstenbildung braucht nicht unbedingt eine Differenzierungshemmung zu sein. Da eine Borste aus einer ganz bestimmten Zelle hervorgeht, die ihrerseits durch Mitosen aus einer noch undifferenzierten Zelle entsteht, kann durch Mitosestörungen die Bereitstellung solcher borstenbildenden Zellen ausbleiben. Die Entstehung der abnorm gestalteten Borsten und der übrigen erwähnten abnormen Bildungen ist damit allerdings nicht erklärt. Im

Abb. 7 a—d. Spermathekenformen NM-behandelter Transplantate. a Unbehandelte Kontrolle, b abgeflachter Typ, c länglicher Typ, d kugeliger und stark verkleinerter Typ.

übrigen scheint auch eine eigentliche Zelldegeneration vorzukommen; wenigstens lassen sich dunkel gefärbte Zusammenballungen, die in den Transplantaten, besonders in den intensiv behandelten, liegen, als nekrotisches Gewebe deuten (vgl. auch Hadorn, Bertani und Gallera 1949).

Als unerwartetes Ergebnis meiner Transplantationsversuche ist sodann festzuhalten, daß Regulationsleistungen vollständig fehlen. Die Genital-Imaginalscheibe ist „ein Segregat, zusammengesetzt aus vollkommen regulationsfähigen Einzelfeldern" (Hadorn, Bertani und Gallera 1949) und reagiert auf Fragmentationsversuche durch regulative Mehrfachleistungen derjenigen Organe, deren Felder angeschnitten wurden. Das Regulationsvermögen, das schon für das zweite Larvenstadium nachgewiesen wurde, hält unvermindert an bis zur Mitte des dritten Larvenstadiums und nimmt dann ab. Mehrfachbildungen durch Regulation sind nicht nur von Genital-Imaginalscheiben bekannt. So konnte Waddington (1942) nach Röntgenbestrahlung im zweiten Larvenstadium verschiedentlich Verdoppelungen von Imaginalscheibenderivaten feststellen. Außerdem traten in den vorliegenden NM-Versuchen (Bad in NM) gelegentlich verdoppelte Organe auf (Palpus, Antenne, Beine, S. 235), was durchaus den Erwartungen entspricht, da NM vielfach gleiche Wirkungen aufweist wie Röntgenstrahlen. Unter insgesamt 67 „in vitro" behandelten Genital-Imaginalscheiben fanden sich dagegen nur 2 Fälle von Regulation (Penistragplatten), welche vermutlich auf Versuchsfehler zurückzuführen sind (S. 248). Möglicherweise hängt dies mit dem Zeitpunkt der Behandlung zusammen. Die Imaginalscheiben wurden in der Mitte des dritten Larvenstadiums behandelt, also gerade zu jenem Zeitpunkt, in dem die Regulationsfähigkeit zwar noch vorhanden ist, aber bereits abzuklingen beginnt. Nun konnte Bodenstein mindestens für den Typ von

Zellen, welcher für das Material der Imaginalscheiben in Frage kommt („potentially dividing cells"), zeigen, daß Funktionsstörungen — hier Störungen der Teilungsfähigkeit — erst einige Zeit nach der Behandlung wirksam werden. Das bedeutet, auf die Verhältnisse bei *Drosophila* übertragen, Mitosen würden erst gestoppt, wenn das Regulationsvermögen bereits erloschen ist. Unter diesen Gesichtspunkten ist es verständlich, daß keine Mehrfachbildungen mehr vorkommen können.

7. *Injektionsversuche mit NM.*

a) Material und Methodik. Zur Injektion diente eine ähnliche Vorrichtung wie die zu den Transplantationen verwendete. Einige Sonderansprüche wurden folgendermaßen befriedigt: Um die injizierte Flüssigkeitsmenge genau dosieren zu können, wurden die Glasinjektionsnadeln geeicht und in der Regel 2 Marken gesetzt, zwischen denen ein Volumen von

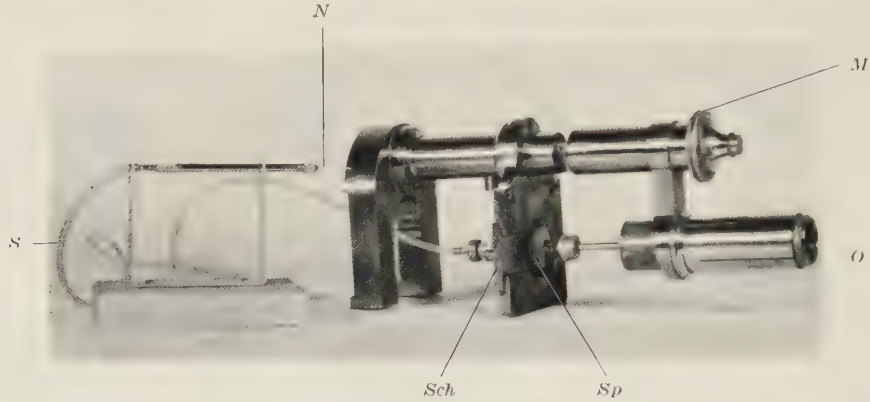


Abb. 8. Injektionsapparatur. *Sp* Injektionsspritze; *S* Schlauch; *N* Injektionsnadel, nur die dickere Basis der Nadel sichtbar; *M* Mikrometerschraube, verwendet zur Feinregulierung; *O* Okulartubus; *Sch* Schieber, zum Einschieben von Blenden, dient hier zum Entfernen der Spritze zu Reinigungszwecken.

genau 0,3 mm³ oder 0,15 mm³ eingeschlossen war. Durch Einsaugen eines Tröpfchens von gefärbtem Paraffinöl zwischen die Flüssigkeit in Spritze und Schlauch und die Injektionsflüssigkeit, konnte kontrolliert werden, wann das gewünschte Volumen Injektionsflüssigkeit aus der Nadelspitze ausgeflossen war. Damit der Paraffinöltropfen genau bei den Nadelmarken zum Stehen gebracht werden konnte, wurde die Injektionsspritze an Stelle der Optik in ein altes Mikroskop eingebaut, so daß dessen Mikrometerschraube zur Feinregulierung verwendet werden konnte (Abb. 8). Auf diese Weise gelang es, die in Bewegung gesetzte Flüssigkeit der Injektionsapparatur momentan zum Stehen zu bringen.

Der NM wurde zu den Versuchen in gepufferter *Drosophila*-Ringerlösung gelöst. Das injizierte Quantum blieb in allen Versuchen dasselbe, jedoch wurde die NM-Konzentration der Flüssigkeit variiert. Behandelt wurden 70—72stündige Larven, d. h. Tiere, welche eine maximale Empfindlichkeit für das *gk*-Merkmal aufwiesen, in Serien von meist 80—100 Individuen. Ausnahmsweise waren es auch mehr oder weniger Tiere, je nach Dosis und Schlüpfrate (Abb. 9). Für weitere Injektionsversuche (spezifische Substanzen, S. 260) wurden Larven auch des späten zweiten und frühen dritten Stadiums herangezogen; ebenso Vorpuppen. Diese wurden zur Behandlung einfachheitshalber auf den Objektträger aufgeklebt. Die durch den Einstich entstandene Öffnung im Puparium wurde mit Lack verklebt, da sie sich nur schlecht zu schließen vermag und aus der Wunde oft nach geraumer Zeit noch Gewebebrei austreten kann. Auf diese Weise behandelte Versuchsserien zeigen zwar geringere Schlüpfraten als „Larvenserien", besonders deshalb, weil nach Injektion in Vorpuppen viele Tiere mit dem Puparium verkleben und trotz fortgeschrittener imaginaler Differenzierung am Schlüpfen verhindert sind. In vielen Fällen werden aber auch solche ungeschlüpften Tiere zur Auswertung herangezogen werden können, und außerdem ist zu beachten, daß die Methode

der Injektion in Vorpuppen erheblich weniger zeitraubend ist als diejenige der Injektion in Larven.

Zur operationsbedingten Sterblichkeit ist zu bemerken, daß sie relativ gering erscheint, weil Tiere, die während oder innerhalb einer kurzen Beobachtungszeit nach der Operation Blut verloren, von vornherein ausgeschaltet wurden.

b) Testmethoden und Kontrollversuche. Um Anhaltspunkte über die Verteilung der injizierten Substanz im Larvenkörper zu gewinnen, wurde Tusche injiziert. Sticht man die Tiere im hinteren Körperviertel an, so gelangt ein Teil der Substanz sofort in den Herzschlauch hinein, wird durch die Herztätigkeit rasch nach vorn befördert und verteilt sich dort. Ein anderer Teil sickert in der Gegend des Einstiches zwischen Darmschlingen, Fettkörper und anderen Organen ein und wird nur langsam verteilt. Ein Test für die Brauchbarkeit der Methode bestand in der Injektion von Kynurenin, dem v^+-Stoff. Es wurden 0,3 oder 0,15 mm³ einer gesättigten Lösung (etwa 0,8%) in junge Vorpuppen eingespritzt (sensible Phase nach Beadle, Clancy, Ephrussi 1937). Zur Verwendung gelangte ein $w^a v$-Stamm, da ein solcher besonders deutlich und empfindlich auf Kynurenin reagiert (Ephrussi, Clancy, Beadle 1936). Von insgesamt 103 behandelten Vorpuppen konnten 67 zur Beurteilung der Augenfarbe herangezogen werden (darunter 30 ungeschlüpfte, aber ausgefärbte Tiere). Alle diese imaginal differenzierten Tiere wiesen w^a, d. h. aprikosenfarbene Augen auf, und zwar trat die Ausfärbung sehr deutlich und äußerst gleichmäßig bei allen Tieren ein. Die Phänokopierate betrug also 100%.

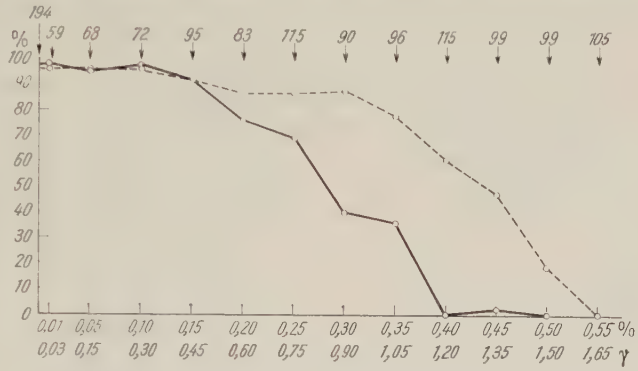


Abb. 9. Überlebensraten NM-behandelter Larven in Abhängigkeit von der injizierten NM-Dosis. Abszisse: Konzentration der Lösung und Menge des injizierten NM. Ordinate: Überlebende in Prozent. ——— Pupale Überlebensrate = geschlüpfte Tiere bezogen auf die Anzahl Puparien; — — — Larvale Überlebensrate = puparisierte Tiere bezogen auf die Anzahl behandelter Tiere. Kontrollwerte unter der Konzentration 0 % NM eingetragen. Für alle berechneten Werte die Zahl behandelter Tiere angegeben.

In den Kontrollversuchen wurden Injektionen von destilliertem Wasser, *Drosophila*-Ringerlösung und rotgefärbtem Paraffinöl ausgeführt. Die Schlüpfrate für Kontrollinjektionen mit Ringerlösung beträgt im Durchschnitt 93%. Sie ist, aufgeteilt in larvale und pupale Schlüpfrate auch in Abb. 9 unter der Rubrik 0% NM eingetragen. Auch eine Menge von 0,3 mm³ destilliertem Wasser wird von den Tieren gut ertragen. Die Schlüpfraten für diese Kontrollversuche, sowie für die Paraffinölversuche liegen ebenfalls bei ungefähr 90%, falls man, wie üblich, die Tiere mit großem Blutverlust nach der Operation aus den Versuchsserien ausschaltet.

c) Schlüpfraten. Abb. 9 zeigt die Überlebensraten in Abhängigkeit von der injizierten NM-Menge. Die larvale Überlebensrate, welche die Anzahl puparisierter Tiere bezogen auf die Zahl behandelter Tiere angibt, hält sich bis zu hohen Dosen in normalem Rahmen. Erst bei intensivster Behandlung fällt sie eindeutig und rasch. Die pupale Überlebensrate (geschlüpfte Tiere bezogen auf die Anzahl Puparien) hingegen sinkt schon deutlich bei niedrigeren NM-Dosen und erreicht früher den Nullpunkt als die larvale Überlebensrate. Es bedeutet dies, daß die Auswirkung des NM hauptsächlich in die Zeit der Metamorphose fällt.

d) Dosisabhängigkeit der Modifikationsraten. Die nach Injektion nichtletaler Dosen von NM beobachteten Modifikationen sind in der Hauptsache die selben wie sie nach einem NM-Bad entstehen, hingegen trat nach Injektion

hoher Dosen als Folge intensiverer Behandlung die Modifikation der abnormen oder fehlenden Genitalien auf, eine Abnormität, die nach NM-Bad nicht beobachtet wurde. In Abb. 10 sind unter die Kategorie der abnormen oder fehlenden Genitalien ähnliche Abnormitäten eingereiht, wie sie sich nach Behandlung von Genital-Imaginalscheiben in vitro und nachfolgender Transplantation ergaben. Geringe Abnormitäten konnten nicht erfaßt werden, da die Tiere nicht mikroskopisch untersucht wurden. Bei fehlenden äußeren Genitalien fehlten in der Regel auch die inneren Derivate der Genital-Imaginalscheibe, bei abnormen äußeren Genitalien waren die inneren entsprechend stark verändert.

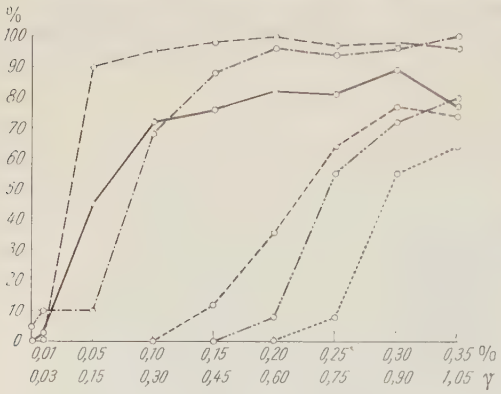


Abb. 10.

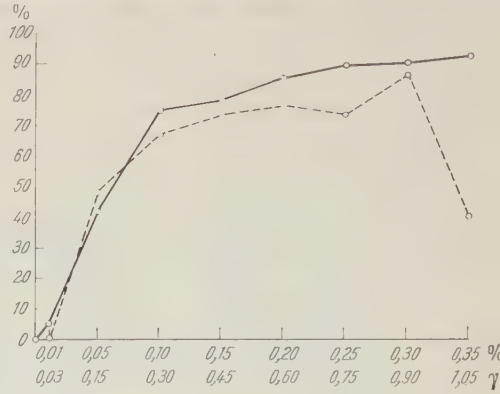


Abb. 11.

Abb. 10. Häufigkeiten verschiedener Modifikationen in Abhängigkeit von der injizierten NM-Dosis. Abszisse: Konzentration der Lösung und Menge des injizierten NM. Ordinate: Häufigkeiten der Modifikationen in Prozent. — — — Augenmodifikation; „rauhe" und „verkleinerte" Augen zusammengefaßt. — · — · — Borstenmodifikationen; abnorme, zusätzliche und fehlende Borsten zusammengefaßt. —— *gk*-Modifikation. - - - - Beinmodifikation. — · · — · · — Abdomenmodifikation; Störungen der Segmentierung und Differenzierung zusammengefaßt. · · · · · · Modifikation der Genitalien; fehlende und abnorme Bildungen zusammengefaßt. Kontrollwerte unter der Konzentration 0 % NM eingetragen. Modifikationsraten nur bis zur Konzentration 0,35 % berechnet, da bei höherer Dosis die Überlebensrate zu gering wird.

Abb. 11. Modifikationsraten des *gk*-Merkmals in Abhängigkeit von der injizierten NM-Dosis. Abszisse: Konzentration der Lösung und Menge des injizierten NM. Ordinate: Häufigkeiten der *gk*-Modifikation in Prozent. —— Gruppe der „gut dosierten Injektionen" (Tiere ohne Blutverlust nach der Operation). - - - Gruppe der „schlechter dosierten Injektionen" (Tiere mit geringem Blutverlust nach der Operation).

Für alle beobachteten Modifikationen ließ sich eine deutliche Abhängigkeit ihrer Häufigkeit von der NM-Dosis zeigen (Abb. 10). Jede Modifikation tritt anfänglich in geringen Prozentsätzen auf, dann steigt ihre Häufigkeit rasch an und stabilisiert sich schließlich auf einem bestimmten Wert, sofern dieser Wert vor dem Eintreten der 100%ig letalen Wirkung überhaupt erreicht wird. Der Wert dieser maximalen Modifikationshäufigkeit kann verschieden hoch liegen. Für Modifikationen der Borsten und Augen kommt er an 100% heran, für gekerbte Flügel liegt er bei ungefähr 90%. Für die Modifikationen „verkrüppelte Beine", „abnormes Abdomen", „abnorme oder fehlende Genitalien" konnte ein konstant bleibender Wert nicht erreicht werden.

In Abb. 11 wurde die Dosisabhängigkeit der *gk*-Modifikation allein dargestellt und die Tiere jeder Versuchsserie in 2 getrennten Gruppen aufgeführt. Einerseits Tiere, bei denen unmittelbar nach der Operation kein Blutverlust beobachtet werden konnte (Gruppe der gut dosierten Injektionen); andererseits solche, bei denen etwas Flüssigkeit aus der Wunde austrat (Gruppe der schlechter dosierten

Injektionen). Im wesentlichen verlaufen die beiden Kurven gleich, jedoch zeigt es sich, daß man einen sehr regelmäßigen Kurvenverlauf erhalten kann, sofern die Dosierung hinreichend genau ist.

Die Versuche zeigen, daß in einem bestimmten Entwicklungsmoment (mittleres drittes Larvenstadium) die verschiedenen imaginalen Primordien verschieden empfindlich sein müssen gegenüber NM. Anders wäre kaum verständlich, wieso jede Modifikation ihre eigene Dosisabhängigkeit zeigt. Freilich ist es nicht unbedingt zulässig, die verschiedenen Modifikationshäufigkeiten direkt miteinander zu vergleichen, da es unmöglich ist, alle Abänderungen nach einem durchgehend einheitlichen Prinzip zu beurteilen.

Merkwürdigerweise konnte die Modifikation „gekerbte Flügel" nie 100% penetrant erhalten werden, obschon Flügelkerbenmutanten sehr häufig 100%ige Penetranz zeigen. Es gibt Tiere, deren Augen, Borsten, Beine, Abdomen, Genitalien äußerst stark betroffen sind, die aber trotzdem normale Flügel aufweisen. Das bedeutet, daß ungenügende Injektionsmenge als alleinige Erklärung nicht in Frage kommen kann. Es bleibt die Möglichkeit, daß unsere Altersbestimmung Ungenauigkeiten zuläßt, so daß sich immer ein gewisser Prozentsatz der Tiere (etwa 10%) zur Zeit der Behandlung nicht mehr in der für Flügelkerben sensiblen Phase befindet. Eine im Stamme genetisch verankerte, unterschiedliche Abwehrfähigkeit (vgl. auch S. 263) käme als weitere Erklärung in Frage.

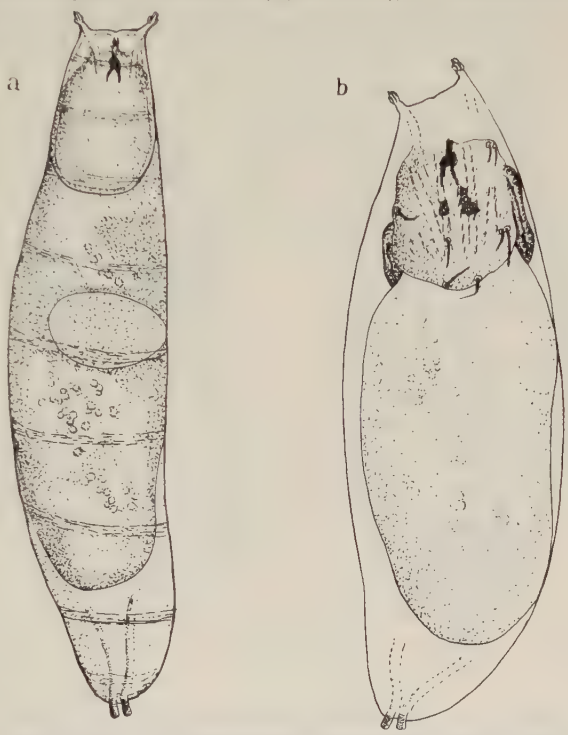


Abb. 12a u. b. Letale Wirkung hoher NM-Dosen. a Entwicklungsstillstand als Vorpuppe, Gasblase im Körperinnern; b kryptocephale Puppe.

e) Phänokopien von Letalfaktoren. Neben abnormer Puparisierung (lange, schmale Puparien mit schlecht ausgestülpten Vorderstigmen, vgl. Abb. 12) traten bei einer Injektion von 0,35%igem NM erstmals kryptocephale Puppen auf, dann mit zunehmender NM-Dosis mehr, bis schließlich bei der Konzentration 0,50% alle puparisierten Tiere kryptocephale Puppen lieferten. Dabei wird das typische Wirkungsmuster des *kryptocephal* (*crc*)-Faktors (Gloor 1945) kopiert, d. h. es finden sich folgende abnorme Bildungen: Nicht oder unvollständig ausgestülpter Kopf mit eventuell ausgefärbten, kleinen, nahe der Medianen gelegenen Augen, sowie nicht abgelöster Mundhakenapparat; das ganze Tier liegt im Puparium weit vorn, das Abdomen kann zum Teil oder ganz vom Puparium

abgelöst sein; auch kann sich noch die Gasblase innerhalb des Abdomens befinden (Abb. 12a und b). Die meisten kryptocephal modifizierten Tiere sterben ab bevor sie imaginal differenziert sind, nur wenige entwickeln sich bis zu ausdifferenziertem Kopf und Thorax. Eine vollständige Identifizierung mit den Auswirkungen des *crc*-Faktors ist nicht möglich, da die Ausgangslagen nicht dieselben sind: Beim *crc*-Faktor führt ein rein physiologischer Defekt im Zeitpunkt der Kopfausstülpung zum typischen Schädigungsmuster, während durch NM-Behandlung schon vor der Kopfausstülpung morphologisch sichtbare Verände-

Abb. 13a—c. Modifikation entsprechend dem *letal-translucida(ltr)*-Genotyp. a Puppe klein, nicht imaginal differenziert, in aufgeblähtem flüssigkeitserfülltem Puparium; b Imago, ungeschlüpft, mit undifferenziertem, großem Abdomen, Puppenhaut zum Teil noch vorhanden; c Imago, ungeschlüpft, mit großem, im vorderen Bereich differenziertem Abdomen.

rungen am ganzen Organismus hervorgerufen werden. Die sensible Phase für das *crc*-Muster liegt bei NM-Behandlung im mittleren dritten Larvenstadium, während GLOOR (1944) das *crc*-Muster durch Hitze oder Kälteschock bei Vorpuppen im Alter von 6—11 Std auslösen konnte.

Ein weiteres typisches Schädigungsmuster trat nach Injektion einer 0,4%igen NM-Lösung auf. Statt am 2. bis höchstens 3. Tag nach der Operation puparisierten sich die Tiere zum Teil erst nach 6 Tagen. Durch starke Flüssigkeitsansammlung im Körper erschienen die Larven aufgetrieben und durchsichtig, d. h. sie nahmen den Phänotyp der Mutante *letal-translucida* (*ltr*) an (HADORN 1949). Allerdings gelang es nicht, in dem Maße die Lymphansammlung zu steigern, wie bei der Mutante. Ovar, Hoden, Speicheldrüsen und Fettkörper sind nicht oder nicht in dem Maße in ihrer Größe reduziert, wie die betreffenden Organe von *ltr*-Tieren. Die MALPIGHIschen Gefäße sind leicht aufgetrieben, manchmal braun verfärbt, eine Tatsache, die andeutet, daß der modifikatorische *ltr*-Phänotyp durch ein

funktionelles Versagen der MALPIGHIschen Gefäße, also durch ungenügende Exkretion, zustande kommen könnte. Bemerkenswert ist, daß im Laufe der weiteren Entwicklung das Schädigungsmuster des *ltr*-Faktors sehr genau nachgeahmt wird, wobei im ganzen gesehen die Expressivität des modifikatorischen Merkmals wiederum geringer bleibt als die des mutativen und ungefähr derjenigen gleichkommt, welche SOBELS und NIJENHUIS (1953) erhielten, wenn sie *ltr*-Tiere in reiner Sauerstoffatmosphäre aufzogen. Es finden sich Tiere, die als Zwergpuppen in einem großen, flüssigkeitserfüllten Puparium liegen und absterben ohne sich imaginal zu differenzieren (Abb. 13a). Andere Tiere differenzieren sich imaginal, zum Teil allerdings nur im Kopf- und Thoraxbereich, zum Teil auch im vorderen oder im ganzen abdominalen Bereich (Abb. 13b und c). Das Merkmal trat bei einer Konzentration von 0,40% in einer Häufigkeit von 80—90% auf. Bei niedrigerer Konzentration wurde das Merkmal nicht deutlich, noch steigerte es sich bei höherer Konzentration. Es war im Gegenteil bei der nächst höheren Konzentrationsstufe (0,45%) höchstens noch andeutungsweise sichtbar; wurde vermutlich durch einen anderen Effekt überlagert.

II. Anwendung spezifisch wirkender Substanzen.

1. Einleitung.

Will man aus Phänokopieversuchen nicht nur Schlüsse ziehen auf allgemeine Prinzipien der Entwicklung, sondern auf einzelne genbedingte Stoffwechselschritte, so ist es notwendig, zur Phänokopierung Substanzen zu verwenden, deren Funktion im Stoffwechselgeschehen bekannt ist. Die bis jetzt verwendeten Methoden und Chemikalien befriedigen in dieser Hinsicht nicht. Nicht nur erwiesen sich die relativ groben Phänokopiermethoden wie Anwendung von Hitze, Kälte, verschiedene Bestrahlungen als unspezifisch in dem Sinn, daß nicht eine bestimmte Methode eine bestimmte Phänokopie erzeugte, sondern es wirkten auch die bis jetzt angewandten Chemikalien nicht streng spezifisch (GLOOR 1944, SANG und McDONALD 1954). Zwar gelingt es vielleicht, indem man Verschiedenheiten und Gemeinsamkeiten der Mittel, die gleiche Phänokopien erzeugen, gegeneinander abwägt, einen bestimmten physiologischen Vorgang wahrscheinlich zu machen; jedoch wird mit der Anwendung unspezifischer Agentien nie die Möglichkeit gegeben sein, den Phänotyp einer Mutante ursächlich auf einen bestimmten fehlgeleiteten Stoffwechselschritt zurückzuführen.

RAPOPORT (1947) gelang es, mehr oder weniger spezifische Modifikationen zu erzielen mit Mitteln von nicht genau bekannter physiologischer Wirkung. Es fragt sich aber, wieweit in diesen Fällen die Übereinstimmung von Phänokopie und Mutante geht. Es sollen deshalb einige der Versuchsanordnungen RAPOPORTS wiederholt und die Ergebnisse in diesem Sinne überprüft werden.

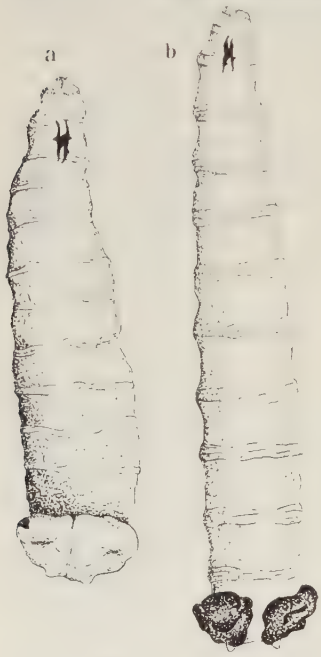
Der nächste Schritt bestünde in der Anwendung spezifisch und in bekannter Weise wirkender Stoffe. Im Prinzip sind aber leider keine Stoffe bekannt, deren physiologische Wirkung bei *Drosophila* wir in allen Einzelheiten kennen. Das beste, was in dieser Hinsicht zur Verfügung steht, sind Vitamine, Antivitamine, Fermentgifte. Es wurden einige derartige Stoffe in Injektionsversuchen geprüft. Eine Besprechung folgt am Schluß dieses Kapitels.

2. Verfütterungsversuche.

Den Tieren wurden die verschiedenen Substanzen in einer breiigen Aufschwemmung frischer Hefe dargeboten. Die Ergebnisse waren bedeutend besser als bei

Verfütterung in Standardfutter, wenn auch nie 100%ige Phänokopieraten erreicht werden konnten, wie Rapoport sie für seine Versuche angibt.

a) Verfütterung von Kaliumrhodanid (KSCN). In einer Konzentration von 1:750 an Larven vom zweiten Stadium an verabreicht, bewirkt *KSCN* (bzw. das *SCN*-Ion) eine Verkürzung der Puppen, wie sie von Rapoport angegeben und von ihm als Phänokopie der Mutante *chubby* bezeichnet wurde, in 96% der Fälle (Abb. 15c). Daß es sich allerdings nicht um eine eigentliche Phänokopie handeln kann, zeigt schon die Tatsache, daß bei der Mutante bereits die aus dem Ei schlüpfenden Larven verändert sind, während die Modifikation erst viel später induziert wird. In meinen Versuchen ergaben Messungen an je 150 Puparien eine



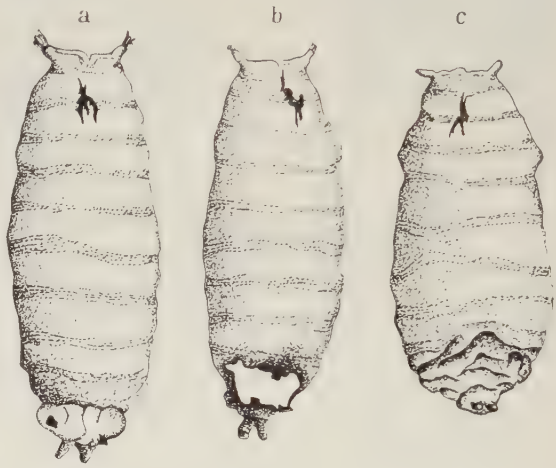


Abb. 14a u. b. Abb. 15a—c.

Abb. 14a u. b. KSCN-geschädigte Larven. a Analorgan blasig ausgestülpt, schwach verkrustet. b Analorgan ausgestülpt, stark verkrustet; Tier tot.

Abb. 15a—c. KSCN-geschädigte Puparien. a Vorpuppe, Analorgan ausgestülpt, schwach chitinisiert, wenig verkrustet; b Vorpuppe, Stelle des Analorgans offen; c Vorpuppe, chubby-artig gestaucht.

durchschnittliche Verkürzung von 2,71 mm ($m = \pm 0{,}44$) auf 2,28 mm ($m = \pm 0{,}070$), d. h. einen statistisch gut gesicherten Unterschied, während in der Breite eine allerdings nur sehr geringfügige und statistisch nur sehr schwach gesicherte Reduktion von 0,94 mm ($m = \pm 0{,}074$) auf 0,92 mm ($m = \pm 0{,}11$) eintrat. Ein anderer Effekt der KSCN-Verfütterung besteht in einer auffälligen Veränderung des Analorgans. Bereits bei Larven des dritten Stadiums können sich an der betreffenden Stelle schwärzliche, krustenartige Flecken finden Abb. 14), das Analorgan ist dauernd ausgestülpt. Bei der Puparium bildung ist in leichteren Fällen die Stelle des Analorgans nur mit einer dünnen Chitinschicht bedeckt (Abb. 15a). In ausgeprägteren Fällen ist die Haut über dem Analorgan überhaupt nicht erhärtet; im Puparium befindet sich an der betreffenden Stelle ein Loch (Abb. 15b). Solche Tiere entwickeln sich nicht über das Vorpuppenstadium hinaus.

b) Verfütterung von Silbernitrat ($AgNO_3$). Nach Verfütterung von $AgNO_3$ (1:800) zeigten Larven des dritten Stadiums deutlich rotbraun gefärbte peri-

kardiale Nephrocyten und ebenso gefärbte Guirlandenzellen des Proventrikels (DEMEREC, Biology of *Drosophila*, p. 179), wie sie auch McDONALD (1948) feststellen konnte. Die Färbung bleibt während des pupalen Lebens erhalten und ist auch bei frisch geschlüpften Imagines von außen noch zu erkennen (Abb. 16). Ein deutlicher Pigmentdefekt mit *yellow*-ähnlichem Phänotyp der Imagines konnte in 35% der Fälle beobachtet werden.

Injektionen von $AgNO_3$ (Konzentrationen zwischen 10 und 0,2%) in junge Larven des dritten Stadiums sowie in Vorpuppen waren ergebnislos. Bei Injektion hoher Dosen starben sämtliche Tiere, bei Injektion geringerer Dosen fanden sich lediglich braun-schwarze Einschlüsse im Abdomen bei sonst normaler Gestaltung der Imagines. Ein Pigmentdefekt war in keinem Falle zu beobachten. Offenbar ist eine langdauernde Behandlung mit geringen Mengen wirksamer als eine einmalige Injektion, oder es sind irgendwelche Komponenten des $AgNO_3$-vergifteten Futters die eigentlich wirksamen Stoffe. Daß nämlich Veränderungen im Futter vor sich gehen, wird besonders im Falle der Beigabe von $AgNO_3$ deutlich, denn die Hefeaufschwemmung wird nach der $AgNO_3$-Zugabe grünlich-braun und verflüssigt sich stark.

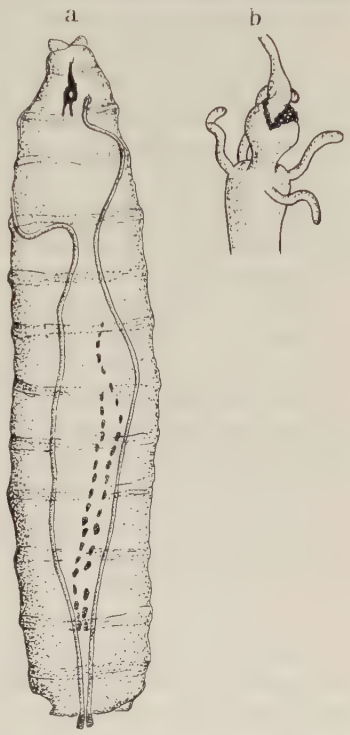


Abb. 16a u. b. $AgNO_3$-modifizierte Larve. a Perikardiale Nephrocyten gefärbt, einzeln und von außen erkennbar; b Guirlandenzellen am Proventrikel ebenfalls gefärbt.

c) Verfütterung von Natriumfluorid (NaF). Nach Verfütterung von NaF (1:3000) trat einzig die von RAPOPORT angegebene Modifikation dunkler Einschlüsse im Körperinnern regelmäßig auf, welche RAPOPORT als Phänokopie der Mutante „*benign tumor*" bezeichnet. Trotz intensiver Behandlung (nur 11% der behandelten Larven entwickelten sich zu Imagines) waren lediglich 15% aller Imagines betroffen.

d) Verfütterung von Quecksilberchlorid ($HgCl_2$). Trotz stark letaler Wirkung des in einer Konzentration von 1:2000 verfütterten $HgCl_2$ (Schlüpfrate nur 6%) konnte höchstens bei wenigen Imagines eine „*minute*"-artige Veränderung und auch dies nur in einzelnen Merkmalen festgestellt werden. Die betreffenden Fliegen wiesen fehlende oder dünne und kurze Borsten auf, in einzelnen Fällen fanden sich leicht „rauhe" Augen.

e) Verfütterung von Semicarbazid ($H_2NNHCONH_2 \cdot HCl$). In 36% aller Fälle trat eine schwache Verdunkelung in der Körperfärbung der Imagines auf, nachdem die Substanz als Hydrochlorid in einer Konzentration von 1:1000 an Larven verabreicht worden war. Ein so deutlicher Verdunkelungseffekt, wie ihn beispielsweise die Mutanten „*ebony*" oder „*black*" hervorbringen, konnte jedoch nicht beobachtet werden. Die Ausprägung der Modifikation war schwach, obschon die Behandlung so intensiv war, daß nur 9% aller behandelten Larven schlüpften.

f) Diskussion. In großen Zügen konnten die Ergebnisse von RAPOPORT bestätigt werden, zumindest soweit sie die hier nachgeprüften Stoffe betreffen.

Für die Wirksamkeit weiterer Substanzen liegen mehr oder weniger bestätigende Resultate von anderer Seite vor (Gersh 1946, McDonald 1948). Allerdings scheinen Futterbedingungen (Versuche McDonalds) von großem Einfluß zu sein auf Toxicität und phänokopierende Wirkung. Die Bedeutung dieser Tatsache darf nicht unterschätzt werden. Sie legt es nahe, das verwendete Agens nicht direkt für die Veränderung im Organismus verantwortlich zu machen, sondern irgendwelche unbekannte und in unbekannter Menge entstehende Stoffe als wirksam anzunehmen.

Im übrigen konnten nicht 100%ige Phänokopieraten erreicht werden, wie sie Rapoport in seinen Versuchen erwähnt. Bei Phänokopieversuchen scheint dies oft der Fall zu sein; möglicherweise, weil individuelle Schwankungen im Ablauf von Stoffwechselvorgängen individuelle Änderungen im Zeitpunkt oder im Ausmaß von Genwirkungen nach sich ziehen. Dem Experimentator fehlt die Möglichkeit, bei der Applikation eines Reizes Rücksicht zu nehmen auf den tatsächlichen physiologischen Zustand eines Individuums. Er nimmt ihn als einheitlich an innerhalb eines Stammes und beurteilt ihn nach rein äußeren und groben Gesichtspunkten. Dabei verfehlt er bei einem Teil der Tiere den Zeitpunkt, zu welchem der applizierte Reiz wirksam gewesen wäre, oder er erreicht nicht bei allen Tieren die Intensität der Behandlung, die zu einer Modifikation geführt hätte.

Es bleibt auch fraglich, mit welcher Berechtigung die von Rapoport gefundenen Modifikationen überhaupt als Phänokopien bezeichnet werden können. Bereits die Forderung nach morphologischer Identität mit der entsprechenden Mutante ist nicht bei allen erfüllt, was an den vorliegenden Beispielen gezeigt werden konnte und worauf auch Sang und McDonald (1954) hinweisen. Eine so unsichere Basis eignet sich von vornherein wenig zur Identifizierung von Stoffwechselvorgängen, die ursächlich an der abnormen Bildung morphologischer Merkmale beteiligt sind.

3. *Injektionsversuche.*

Aus oben dargelegten Gründen sind in den folgenden Versuchen Stoffe zur Anwendung gekommen, von denen man eine spezifische physiologische Wirkung annehmen konnte. Spezifität der Wirkung zusammen mit direkter Applikation durch Injektion sollten den Ablauf unkontrollierbarer Vorgänge auf ein Minimum reduzieren.

Pantothensaures Calcium. Insgesamt erhielten 120 Tiere des dritten Larvenstadiums und des Vorpuppenstadiums je 0,3 mm³ einer 5%igen oder 10%igen Vitaminlösung injiziert. Die injizierte Substanzmenge ist beträchtlich. Es ist unwahrscheinlich, daß sie zu klein ist, um Modifikationen auszulösen, falls die Substanz in diesem Altersstadium überhaupt modifizierend wirken kann. Vermutlich wird ein Überschuß an Vitamin allzu rasch ausgeschieden oder abgebaut, oder er bleibt im Organismus liegen ohne irgendwelche Wirkung zu entfalten. Die Möglichkeit, daß nichtsensible Stadien behandelt wurden, bleibt offen.

Nicotinsäureamid. Die Substanz wurde in Konzentrationen zwischen 5% und 15% (0,3 mm³) appliziert. Behandelt wurden 168 Larven des zweiten und dritten Larvenstadiums. Bei den 46 geschlüpften Imagines konnten keine spezifischen Modifikationen festgestellt werden.

Sulfanilamid. Wird in Hefefutter eine große Dosis Sulfanilamid verabreicht, sterben die meisten Larven nach einer gewissen Zeit ab. Die Überlebenden zeigen

deutliche Hungererscheinungen. Die Tiere sind klein, ihr Fettkörper ist reduziert, die beiden Haupttracheenstämme mäanderartig gewunden, ähnlich der Mutante „*letal-meander*" (SCHMID 1949). Die sehr wenigen geschlüpften Imagines waren entsprechend den kleinen Larven sehr klein; ihre übrige Morphologie war jedoch normal, abgesehen von dunklen Einschlüssen im Körper, die häufig an den Gelenken der Beine lagen.

Injektionen von Sulfanilamid in Larven des zweiten und dritten Stadiums waren ohne phänotypischen Effekt; vielleicht deshalb, weil durch vermehrte Futteraufnahme und vermehrte Bildung von p-Aminobenzoesäure im Organismus der Verlust allzu rasch ausgeglichen werden konnte. Auch bei jungen Vorpuppen war eine einmalige Injektion erfolglos. Es wurde deshalb in ein und dasselbe Tier 2—3mal injiziert und zwar im späten zweiten, im dritten und im Vorpuppenstadium (jedesmal 0,3 mm³ 0,8%ige Lösung). Nach der 2. Injektion waren Tiere mit leicht braun gefärbtem, aufgetriebenem Analorgan zu beobachten, in einigen Fällen auch braun gefärbte perikardiale Nephrocyten. Infolge hoher Sterblichkeit konnte nur in 28 Tiere ein 3. Mal injiziert werden. Die sich entwickelnden Imagines waren abgesehen von den üblichen vereinzelten Modifikationen normal.

Schlangengift. Es schien denkbar, daß durch die Wirkung hochspezifischer Fermente des Schlangengiftes morphologische Veränderungen des Organismus hervorgerufen werden könnten. Insgesamt wurden in verschiedenen Serien 400 Larven des zweiten und des dritten Stadiums und Vorpuppen behandelt. Sie erhielten Mengen von 0,3 mm³ Cobra-Giftlösung injiziert, wobei die Konzentration der Lösung zwischen 1,0% und 0,01% variiert wurde. Für Larven des mittleren dritten Stadiums wirkte eine Konzentration von 0,02% nicht mehr in allen Fällen tödlich. Die Schlüpfrate betrug in diesem Falle 78%. Die geschlüpften Imagines wiesen keine typischen Modifikationen auf.

Chinon. Zu den Injektionen wurde Hydrochinon verwendet, welches sich als stark toxisch erwies. Konzentrationen von 0,7—0,1% in einer Menge von 0,15 mm³ in Larven des dritten Stadiums injiziert, führten bei allen Tieren zum Tode. Niedrigere Dosen erlaubten bei wenigen Tieren die Entwicklung zu Imagines, ließen jedoch keine typischen Modifikationen entstehen. In junge Vorpuppen injiziert, wirkten Konzentrationen bis zu 0,03% für alle Tiere letal, wobei der Entwicklungsstillstand einheitlich auf das Stadium der maximalen Ausdehnung der Gasblase (10—11 Std alte Vorpuppen) fiel. Bei weniger intensiver Behandlung (Konzentrationen von 0,02—0,01%) stiegen die Schlüpfraten von durchschnittlich 3 auf 47% (119 Tiere). Modifikationen konnten auch durch Behandlung im Vorpuppenstadium nicht erzielt werden.

Diskussion. Das negative Ergebnis der Injektionsversuche war unerwartet. Vielleicht wird die Wahrscheinlichkeit für ein Gelingen zu klein, wenn Substanzen mit spezifischer Wirkung appliziert werden, die nicht nur unverändert, sondern vermutlich auch in einem beschränkten Zeitraum zur Wirkung gelangen müssen. Außerdem können unerwünschte Nebenwirkungen eine an sich richtig getroffene Versuchsanordnung stören. Es muß weiter mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß bei einer Beurteilung der Morphologie mit relativ groben Mitteln Veränderungen übergangen werden, soweit sie minutiöse äußere oder innere Merkmale betreffen. Rein physiologische Modifikationen würden der Beobachtung ebenfalls entgehen. Auch ist es vielleicht für die Phänokopierung

in vielen Fällen ungünstig, wenn, wie im Falle der Injektion, zu viel Substanz auf einmal appliziert werden muß: Ein Überschuß wird rasch neutralisiert, abgebaut oder ausgeschieden. Toxische Wirkungen großer Substanzmengen sind zwar nicht gänzlich auszuschließen, aber sie dürften bei Verwendung körpereigener Stoffe eine untergeordnete Rolle spielen. Bezeichnenderweise traten z. B. nach einer Kynureninbehandlung, die als idealer Fall einer Phänokopierung (der Wildform) mit physiologischen Mitteln gelten kann, keine toxischen Nebenwirkungen in Erscheinung, auch wenn die Substanz im Überschuß appliziert wurde (100%ige Phänokopierate bei Injektion von 0,15 mm^3 oder 0,30 mm^3 einer gesättigten Lösung). Das Beispiel des Kynurenins zeigt weiterhin, daß es im Prinzip auch für *Drosophila* Stoffe von der hier gesuchten Art geben muß, d. h. solche, die durch Abänderung eines bestimmten Stoffwechselschrittes den Phänotypus eines Individuums verändern.

Schlußbesprechung.

Phänokopieversuche haben einerseits Bedeutung auf genphysiologischem Gebiet, andererseits sind sie geeignet, rein entwicklungsphysiologische Fragen zu beantworten. Bei *Drosophila* im speziellen gewinnt der Phänokopieversuch Bedeutung als entwicklungsphysiologisches Experiment. Die Kriterien, die man von einer Phänokopie fordern muß, damit Aussagen über Genwirkungen möglich werden, sind in diesem Falle nebensächlich.

In der vorliegenden Arbeit sind die „in vitro-Behandlungen" von Genital-Imaginalscheiben als rein entwicklungsphysiologische Experimente aufzufassen. Sie haben gezeigt, daß im Zeitpunkt der Auswirkungen des Nitrogen-Mustard die einzelnen Derivate der Genital-Imaginalscheiben determiniert sind. Die Gesamtorganisation des Primordiums blieb unangetastet, während die verschiedenen Einzelstrukturen durch die Behandlung betroffen wurden. Die Wirkung des Nitrogen-Mustards wird erst nach der Puparisierung sichtbar. Erst nach diesem Zeitpunkt setzt das massenhafte Absterben von Tieren ein, auch wenn die Behandlung im Larvenstadium erfolgt war (Bad oder Injektion, vgl. besonders Abb. 9 und S. 253). Außerdem erscheinen in den Flügelanlagen erste Anzeichen abnormer Entwicklung erst im frühen Puppenstadium (Stadium P_2 nach Waddington 1942). Es können zu diesem Zeitpunkt Stellen aufgelockerter Randzone beobachtet werden, während wenig später sich bereits schwache Kerben finden.

Im übrigen können Phänokopieversuche mit unspezifischen Mitteln auch auf genphysiologischem Gebiet Aussagen ermöglichen, soweit mit ihrer Hilfe allgemeine Prinzipien der Genwirkungen herausgearbeitet werden sollen (vgl. auch Goldschmidt 1935, Henke, v. Fink und Ma 1941). In diesem Sinne kann die Feststellung über das Auftreten einer sensiblen Phase zur Auslösung von Flügelkerben durch Nitrogen-Mustard in der vorliegenden Arbeit gewertet werden.

Bei Verwendung von Chemikalien als auslösende Agentien bieten sich dem Experimentator Vorteile gegenüber der Applikation völlig unspezifischer Mittel. Durch den hier verwendeten Nitrogen-Mustard konnten in der Hauptsache die Modifikationen „gekerbte Flügel", „rauhe und verkleinerte Augen", „abnormes Abdomen", „verkrüppelte Beine" und „abnorme Borsten" hervorgerufen werden. Es ist auffällig, wie häufig bei Flügelkerbenmutanten auch die Augen abnorm ausgebildet sind, und zwar ist ihre Oberfläche rauh, ihre Fläche

verkleinert. Außerdem können sich in anderen Fällen zusammen mit genetisch bedingten Flügeldefekten auch abnorm ausgebildete Borsten finden, es kann die Segmentierung des Abdomens gestört sein oder es können die Beine krüppelhaft ausgebildet sein. Es ist auch bekannt, daß gerade Flügelkerben häufigst entstehende Mutationen sind. Vielfach sind sie nicht durch Genmutationen bedingt, sondern durch Chromosomenaberrationen. Alle diese Tatsachen weisen darauf hin, daß die genbedingte Bildung von Flügelkerben als Folge eines gestörten Stoffwechselvorganges mit grundlegender und vielseitig sich auswirkender Bedeutung zustande kommen könnte. Entsprechend entständen nitrogen-mustard-bedingte Flügelkerben und die begleitenden Modifikationen ebenfalls durch die Störung dieses gleichen grundlegenden Stoffwechselvorganges[1].

In den hier beschriebenen Experimenten wurde Nitrogen-Mustard auf verschiedene Weise appliziert, indem einerseits ganze Tiere in der gelösten Substanz gebadet wurden, andererseits einzelne Organe einer solchen Behandlung unterzogen wurden. Außerdem wurde durch Injektion die Substanz direkt in den Organismus hineingebracht. In meinen Versuchen konnte für alle 3 Methoden ein gleicher Erfolg festgestellt werden, was jedoch für viele andere Substanzen nicht zu erwarten wäre.

Mit der Injektionsmethode ist nicht nur die Möglichkeit gegeben, eine Substanz unverändert wenigstens bis in die Blutbahn zu bringen, sondern auch die Möglichkeit der präzisen Dosierung. Die Dosisabhängigkeit von Phänokopieraten ist wiederholt in Betracht gezogen worden (Goldschmidt 1935, Blanc und Braun 1942, Sang und McDonald 1954), aber nur auf Grund einer hohen Genauigkeit der Dosierung wird es möglich sein, Dosis-Effektbeziehungen mit genügender Sicherheit zu beurteilen. Bei der Injektion von Nitrogen-Mustard verliefen weder die Schlüpfraten noch die Modifikationsraten der Menge injizierter Substanz proportional. Die Modifikationsraten steigen nach anfänglich schwacher Zunahme rasch an mit Erhöhung der Injektionsdosis. Ist jedoch die maximale Penetranz erreicht, so können auch größere Substanzmengen keinen Anstieg in den betreffenden Modifikationshäufigkeiten mehr bewirken (Abb. 10 und 11 und S. 254). Für gewisse Modifikationen findet die rapide Zunahme der Penetranz bei Substanzmengen statt, welche die Schlüpfrate noch nicht wesentlich herabdrücken (vgl. Abb. 9 und 10). Das bedeutet, daß phänokopierende Mengen weit unter letalwirkenden Mengen liegen können. Es hat sich sogar gezeigt, daß Dosen, die fast 100%ig letal wirken, nicht unbedingt größere Modifikationshäufigkeiten bewirken müssen, als schwächere Dosen ohne wesentlichen letalen Effekt. Ein solches Verhalten gilt besonders für die in Abb. 11 dargestellte Dosisabhängigkeit der Flügelkerbenmodifikation.

Eine mögliche Deutung dieser Erscheinung wurde bereits erwähnt (S. 255). Es ist jedoch auch die folgende Erklärung möglich. Ein Stamm ist bezüglich seiner genetischen Konstitution stark heterogen. Bei einem Teil der Tiere ist die Ausbildung eines bestimmten Merkmals so stark gesichert, daß ein Umwelteinfluß diesen weitgehend gesicherten Entwicklungsablauf nicht ablenken kann. Im gleichen Tier können jedoch andere Entwicklungsvorgänge wenig gesichert sein, so daß sie durch Außeneinflüsse leicht gestört werden können und zu abnormer

[1] Nach Dixon und Needham (1946) hemmt NM Phosphokinasen, nach Bodenstein und Kondritzer (1948) die Desoxyribonucleinsäurebildung.

Bildung oder zum Tod des Tieres führen. Ganz allgemein ist die genetische Beschaffenheit eines Stammes von entscheidender Bedeutung für die aus einem Versuch resultierenden Modifikationen oder Modifikationshäufigkeiten. Am Beispiel der Flügelkerbenmodifikationen konnte die Wichtigkeit des Genoms als Grundlage demonstriert werden. Eine Diskussion findet sich S. 245.

Im Verlauf der Versuche ergaben sich Anhaltspunkte für ein ähnliches Verhalten anderer Merkmale. In dem verwendeten *Berlin-Inzucht*-Stamm besteht möglicherweise eine genetisch bedingte Tendenz zur Reduktion des Humerus (vgl. S. 233). Bei den verschiedensten *melanogaster*-Stämmen scheint eine Tendenz zu abnormer Flügeladerbildung verbreitet zu sein, ebenso eine Tendenz zur Ausbildung zusätzlicher Dorsozentralborsten, denn bereits bei Zucht in der Kälte traten diese beiden Modifikationen häufig auf. Auch eine Tendenz zur Flügelkerbenbildung scheint bei verschiedenen *Drosophila*-Stämmen vorzukommen (vgl. S. 246). Das relativ häufige Auftreten von Kerben als mutatives Merkmal, sowie ihr gelegentliches Verschwinden aus Populationen (Braun 1940) weisen ebenfalls in diese Richtung.

Wo genotypische Unterschiede beträchtlich sind, z. B. wenn es sich um verschiedene Arten handelt, werden die Schwellenwerte für die Auslösung bestimmter Modifikationen weit divergieren. Bodenstein und Abdel Malek (1949) konnten an *D. virilis* beinartige Strukturen an Stelle der Arista in großer Häufigkeit erhalten, während in meinen Versuchen mit gleicher Behandlung an *D. melanogaster* ein gleiches Merkmal nur in 2 Einzelfällen (vgl. S. 235) auftrat. Umgekehrt konnte das bei *D. melanogaster* häufig entstandene Flügelkerbenmerkmal bei *D. virilis* offenbar nicht erhalten werden.

Neben all diesen Bereichen bleibt jedoch das Gebiet der Genphysiologie das hauptsächlichste Anliegen der Phänokopieforschung. Es wurde deshalb der Versuch unternommen, durch Injektion hoch spezifisch wirkender Chemikalien selektiv einen bestimmten Stoffwechselvorgang zu treffen und damit spezifische Phänokopien auszulösen. Dem Unternehmen war leider kein Erfolg beschieden, wohl aus rein technischen, nicht aus prinzipiellen Gründen, wie S. 261 dargelegt wurde.

Zusammenfassung.

1. Larven von *Drosophila melanogaster* wurden in verschiedenen Altersstadien mit Nitrogen-Mustard (Stickstofflost) behandelt und die sich entwickelnden Imagines auf Modifikationen geprüft. Die Veränderungen betrafen in der Hauptsache die Flügel, Augen, Beine, Borsten und das Abdomen.

2. Die Modifikation „gekerbte Flügel" wurde eingehender untersucht. Für ihre Auslösbarkeit besteht eine sensible Phase, die in der Mitte des dritten Larvenstadiums ihren Höhepunkt erreicht. Penetranz und Expressivität der Modifikation sind temperaturabhängig. Tiefe Zuchttemperatur begünstigt die Manifestation des Merkmals.

3. In geringem Prozentsatz und mit schwacher Expressivität konnten Flügelkerben auch bei Kontrollen festgestellt werden, jedoch nur, wenn diese in der Kälte gezüchtet worden waren.

4. Von den wenigen Kontrolltieren mit Flügelkerben ausgehend, konnte durch Selektion ein Stamm herangezüchtet werden, der das Flügelkerbenmerkmal mit

100%iger Penetranz und starker Expressivität zeigte. In Kreuzungsversuchen erwies sich dieses genetische Merkmal als polyfaktoriell.

5. Der Zusammenhang zwischen genetischem und modifikatorischem Flügelkerbenmerkmal wurde diskutiert. Es wurde für den verwendeten Stamm eine latente genetische Bereitschaft zur Flügelkerbenbildung angenommen.

6. Genital-Imaginalscheiben von *Drosophila melanogaster*-Larven wurden in vitro mit Nitrogen-Mustard behandelt und anschließend transplantiert. Die differenzierten Geschlechtsapparate wiesen deutliche Minderleistungen auf. Regulative Mehrleistungen wurden nicht beobachtet.

7. In *Drosophila*-Larven des mittleren dritten Stadiums wurden genau dosierte Mengen Nitrogen-Mustardlösung verschiedener Konzentration injiziert. Alle beobachteten Modifikationen, sowie die Schlüpfraten zeigten eine deutliche Dosisabhängigkeit. Bei Injektion letalwirkender Dosen wurden Phänokopien zweier Letalmutanten erzielt: „*kryptocephal*" und „*letal-translucida*".

8. In einigen Verfütterungsversuchen wurde eine Auswahl der von Rapoport als phänokopierend beschriebenen Chemikalien getestet und dabei verschiedene Modifikationen festgestellt. Die Modifikationsraten betrugen dabei nie 100%.

9. In vorläufigen Versuchen wurden einige physiologische und nach Möglichkeit spezifisch wirkende Substanzen auf ihre phänokopierende Wirkung geprüft. Es konnten durch diese Injektionen keine Phänokopien induziert werden.

Literatur.

Beadle, G. W., C. W. Clancy and B. Ephrussi: Development of eye colours in *Drosophila:* Pupal transplants and the influence of body fluid on *vermilion.* Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B, **826**, 98 (1937). — Bertschmann, M.: Phänokopieversuche mit Nitrogen-Mustard an *Drosophila melanogaster.* Arch. Klaus-Stiftg **27**, 166 (1952). — Blanc, R., and W. Braun: Phenocopies and X-radiation in *Drosophila melanogaster.* Univ. California Publ. Zool. **49** (1942). - Bodenstein, D.: Chemical alteration of development in *Drosophila* (abstract). Anat. Rec. **99**, 590 (1947a). — The effects of nitrogen mustard on embryonic amphibian development. J. of Exper. Zool. **104**, 311 (1947b). — The effects of nitrogen mustard on embryonic amphibian development. I. Ectodermal effects. J. of Exper. Zool. **108**, 93 (1948a). — The effects of nitrogen mustard on embryonic amphibian development. II. Effects on eye development. J. of Exper. Zool. **108**, 93 (1948b). — The postembryonic development of *Drosophila.* Biology of *Drosophila,* edited by M. Demerec, S. 275. 1950. — Effects of radiomimetic substances on embryonic development, with special reference to nitrogen mustards. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **43**, Suppl. 1, 179 (1954). — Bodenstein, D., and A. Abdel-Malek: Induction of aristapedia by nitrogen mustard. J. of Exper. Zool. **111**, 95 (1949). — Bodenstein, D., and A. Kondritzer: The effect of nitrogen mustard on nucleic acids during embryonic amphibian development. J. of exper. Zool. **107**, 109 (1948). — Braun, W.: The effect of punctures on the developing wings of several mutants of *Drosophila melanogaster.* J. of Exper. Zool. **84**, 325 (1940). — Buchmann, W., u. N. W. Timofeéff-Ressovsky: Über Wirkung der Temperatur auf den Mutationsprozeß bei *Drosophila melanogaster.* V. Nichterbliche Modifikationen, ausgelöst durch Temperaturschocks in verschiedenen Entwicklungsstadien. Z. Vererbungslehre **74**, 472 (1938). — Dixon, M., and D. M. Needham: Biochemical research on chemical warfare agents Nature (Lond.) **158**, 432 (1946). — Enzmann, E. V., and C. P. Haskins: Note on modifications in the morphogenesis of *Drosophila melanogaster* occuring under neutron bombardment. Amer. Naturalist **73** (1939). — Ephrussi, B., and G. W. Beadle: A technique of transplantation for *Drosophila.* Amer. Naturalist **70**, 218 (1938). — Ephrussi, B., C. W. Clancy et G. W. Beadle: Influence de la lymphe sur la couleur des yeux *vermilion* chez la *Drosophile.* C. r. Acad. Sci. (Paris) **203**, 545 (1930). — Epsteins, F. F.: Über Modifikationen (Phänokopien) der Flügelform nach Bestrahlung mit UV-Licht bei *Drosophila.* Genetica ('s-Gravenhage) **21**, 225 (1939). — Friesen, H.: Röntgen-

morphosen bei *Drosophila*. Arch. Entw.mechan. **134**, 147 (1936). — Fritz-Niggli, H.: Die Einwirkungen des Ultraschalls auf die Entwicklung und Mutationsrate der Taufliege *Drosophila melanogaster*. Arch. physik. Ther. **2**, 56 (1950). — Ultraschallschädigungen und Röntgeneffekte bei *Drosophila melanogaster*. Strahlenther. **85**, 233 (1951). — Geigy, R.: Erzeugung rein imaginaler Defekte durch ultraviolette Eibestrahlung bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Entw.mechan. **125**, 406 (1931). — Gersh, E. S.: Chemically induced phenocopies in *Drosophila melanogaster*. Drosophila Information Service **20** (1946). — Gleichauf, R.: Anatomie und Variabilität des Geschlechtsapparates von *Drosophila melanogaster*. Z. wiss. Zool. **148**, 1 (1936). — Gloor, H.: Phänokopie einer Letalmutante (*crc*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **51**, 394 (1944). — Zur Entwicklungsphysiologie und Genetik des Letalfaktors *crc* bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **20**, 209 (1945). — Phänokopieversuche mit Äther an *Drosophila*. Rev. suisse Zool. **54**, 637 (1947). — Biochemische Untersuchungen am Letalfaktor *ltr* von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **56**, 281 (1949). — Goldschmidt, R.: Gen und Außeneigenschaft I und II. Z. Vererbungslehre **69**, 38 (1935). — Additional data on phenocopies and genic action. J. of Exper. Zool. **100**, 193 (1945). — Hadorn, E.: Zur Entwicklungsphysiologie der Mutante „*letal-translucida*" (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **56**, 271 (1949). — Hadorn, E., G. Bertani u. J. Gallera: Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginalscheibe von *Drosophila melanogaster*. Arch. Entw.mechan. **144**, 31 (1949). — Hadorn, E., et H. Gloor: Transplantationen zur Bestimmung des Anlagemusters in der weiblichen Genital-Imaginalscheibe von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **56**, 495 (1946). — Henke, K., E. v. Finck u. S. Y. Ma: Über sensible Perioden für die Auslösung von Hitzemodifikationen bei *Drosophila* und die Beziehungen zwischen Modifikationen und Mutationen. Z. Vererbungslehre **79**, 267 (1941). — Jollos, V.: Die Übereinstimmung der bei *Drosophila* nach Hitzeeinwirkung entstehenden Modifikationen und Mutationen. Naturwiss. **21**, 831 (1933a). — Weitere experimentelle Untersuchungen zum Artumbildungsproblem. Naturwiss. **21**, 455 (1933b). — Kaji, S., u. M. Ogaki: Induction of phenocopy by nitrogen mustard in *Drosophila melanogaster*. Zool. Magazine **60**, 254 (1951). — McDonald, J. M.: Production of phenocopies in *Drosophila* by chemical substances. Heredity (Lond.) **2**, 408 (1948). — Rapoport, J. A.: Specific morphoses in *Drosophila* induced by chemical compounds. Bull. biol. et med. expér. U.R.S.S. **7** (1939). — On the synthesis of gene products in equimolecular quantities. Amer. Naturalist **31**, 30 (1947). — Robertson, C. W.: The metamorphosis of *Drosophila melanogaster*, including an accurately timed account of the principal morphological changes. J. of Morph. **59**, 351 (1936). — Sang, J. H., and J. M. McDonald: Production of phenocopies in *Drosophila* using salts, particularly sodium metaborate. J. Genet. **52**, 392 (1954). — Schmid, W.: Analyse der letalen Wirkung des Faktors *lme* (*letal-meander*) von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **83**, 220 (1949). — Sobels, F. H., and L. E. Nijenhuis: An investigation into the metamorphosis of the mutant *ltr* of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **85**, 579 (1953). — Waddington, C. H.: Genetic control of wing development in *Drosophila*. J. Genet. **41**, 75 (1941). — Some developmental effects of X-rays in *Drosophila*. J. of Exper. Biol. **19**, 101 (1942). — Selection of the genetic basis for an acquired character. Nature (Lond.) **169**, 278 (1952). — Genetic assimilation of an acquired character. Evolution **7**, 118 (1953). — Waddington, C. H., and M. Begg: Selection of the genetic basis for an acquired character. Nature (Lond.) **169**, 625 (1952).

Dr. May Bertschmann, Genetisches Institut der Universität, Leiden (Holland).

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 87, S. 267—297 (1955).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

ZUR KENNTNIS DER MORPHOLOGIE UND DES WUCHSSTOFFVERHALTENS DER *OENOTHERA HYBRIDA* MUT. *HELIX**.

Von

PETER CHROMETZKA.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Juli 1955.)

I. Einleitung.

Im Sommer 1940 fand RENNER in einer Familie der aus *Oe. (Lamarckiana × atrovirens) velutiflexa* abgeleiteten Kombination *Z-amphivelutina* (= *velans* · *Z-velans*, genauer *velans* · *flectens* · 1 · 2, 3 · 4, 11 · 12, 13 · 14) eine Mutante, die nach den schneckenförmig eingerollten Stengelblättern den Namen *helix* erhielt (RENNER 1953) und die bis 1952 in 7 Generationen unverändert aufgezogen wurde.

Über die morphologischen Verhältnisse hat RENNER schon ziemlich ausführlich berichtet. Aufgabe der im folgenden mitzuteilenden Untersuchungen war es, den Entwicklungsgang der Mutante und ihre anatomischen Verhältnisse im Vergleich mit der Normalform zu studieren, vor allem aber nach Unterschieden im Wuchsstoffverhalten zu suchen, weil die Vermutung nahe lag, daß die gestaltlichen Eigentümlichkeiten der Mutante durch eine Störung des Wuchsstoffsystems hervorgerufen seien. Auch die Kenntnis von der Genetik der Mutante und ihrer Verbindungen sollte erweitert werden, doch liegen bis jetzt nur F_1-Generationen vor, über die zu berichten sich noch nicht verlohnt.

Von aus der *Z-amphivelutina* abgeleiteten *helix*-Verbindungen war in den Kulturen von Prof. RENNER nur noch die aus *Z-amphivelutina* × *Lamarckiana* mut. *blandina* gewonnene *veloblandina* (= *velans* · ^{h}*blandina*) vorhanden; homozygotische *blandina* war nicht aufgetreten. Aus Samen der *Hookeri helix* gingen nur noch Krüppel hervor, die nicht ausgepflanzt werden konnten. *Oe. Lamarckiana helix* war schon 1949 eingegangen (vgl. RENNER 1953, S. 39).

Die vorliegenden Untersuchungen wurden in den Jahren 1953 und 1954 in den Botanischen Staatsanstalten München-Nymphenburg ausgeführt. Herrn Prof. RENNER danke ich für die ständige Anteilnahme, die er meiner Arbeit zukommen ließ, Herrn Prof. OEHLKERS für wertvolle Literaturhinweise, Herrn Oberinspektor FISCHER für die Förderung der Gartenarbeiten, Herrn E. KRAUSE für die Anfertigung der Photographien. Der Forschungsgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft habe ich für finanzielle Hilfe zu danken.

II. Zur äußeren Morphologie.

1. Die Sämlinge bis zum Rosettenstadium. Ein Teil der Sämlinge, oft der weitaus größere, entwickelt sich vollkommen normal, und noch im Rosettenstadium ist kein Unterschied der Mutante gegenüber der Normalform zu erkennen. Aber Wuchsstörungen sind viel häufiger als bei anderen Oenotheren, und oft erreichen sie ein Maß, wie es sonst nie beobachtet wird.

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

1. Stufe: Das Wachstum des Sämlings kann stillstehen, wenn einige, höchstens 4 Laubblätter gebildet sind; kommt noch ein 5. Blatt zur Entwicklung, so ist das weitere Wachstum gesichert. Das Hypokotyl der gehemmten („blinden") Sämlinge wird zu einer kleinen Rübe, in deren flachen Scheitel die Blätter wie in einen kleinen Blumentopf hineingesteckt erscheinen (Abb. 1). Die Stiele werden länger als sonst bei den Primärblättern und richten sich auf, die Spreiten sind dicker und zerbrechlich.

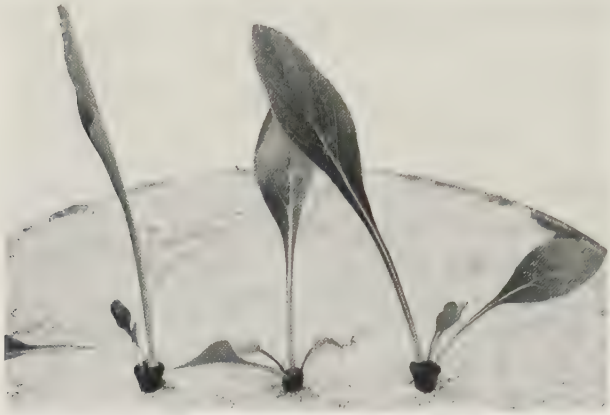


Abb. 1. Gehemmte („blinde") Sämlinge von *Z-amphivelutina helix*, deren Hypokotyl zu einer kleinen Rübe geworden ist. $^1/_2$ natürl. Größe.

2. Stufe: Zwischen den Kotyledonen, die größer werden als gewöhnlich, steht nur noch ein kleines stiftförmiges Gebilde (Abb. 2).

3. Stufe: Der Vegetationspunkt zwischen den normal ausgebildeten Kotyledonen wächst überhaupt nicht aus (Abb. 2, rechtes Pflänzchen in der zweiten Reihe von oben).

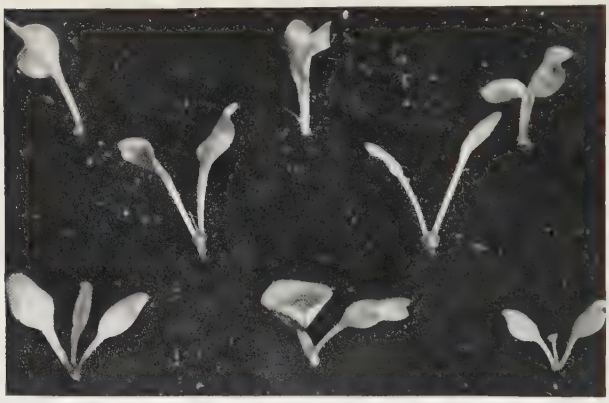


Abb. 2. Gehemmte Sämlinge von *Z-amphivelutina helix*; der Vegetationspunkt ist abgestorben. $^3/_4$ natürl. Größe.

4. Stufe: Die Kotyledonen verwachsen (Abb. 6b—d) oder treten nur in Einzahl auf (Abb. 2). Dabei kommen die merkwürdigsten Formen vor (Abb. 2): Schalen-, Becher-, Tüten- oder Spatelbildungen sind relativ häufig; seltener beobachteten wir herz- oder nierenförmige Gebilde. Diese Verwachsungen gehen Hand in Hand mit dem Absterben des Vegetationspunktes.

5. Stufe: Die Kotyledonen werden nicht getrennt, sie endigen keulenförmig und tragen in der Höhe die Samenschale (Abb. 3, rechtes Pflänzchen).

2. Die schossenden Sprosse. Kommt die Helixpflanze früh zum Schossen, so beginnt etwa vom 6. Stengelblatt an eine Epinastie, die zu einer schneckenförmigen Einrollung des ganzen Blattes führt (vgl. RENNER 1943, S. 481 und 1953, S. 30); schoßt die Pflanze später, so beginnt die Epinastie etwa mit dem 10. Blatt. Vom ersten Brakteenblatt an hört die Einrollung auf (Abb. 4).

Eine Zeitlang wächst der Gipfel noch fort, wobei er zahlreiche rudimentäre Blüten, besonders in den Achseln der unteren Brakteen, und nur wenige normale

Blüten abgliedert; die Brakteen nehmen vielfach noch wellige Formen an. Der Hauptvegetationspunkt erschöpft sich dann sehr früh (im Jahre 1954 bereits am 2. Juli) in einer Blüte, die nicht zur Entwicklung kommt und bald abgestoßen wird; das Trennungsgewebe besteht aus rundlichen Zellen.

Grundständige Seitentriebe aus den Achseln der Rosettenblätter fehlen der *Z-amphivelutina helix* völlig; es können indes, je nach der Witterung des Jahres,

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 3. „Blinde" Sämlinge von *Z-amphivelutina helix*, Hypokotyle angeschwollen. Das rechte Pflänzchen trägt noch die Samenschale auf den zu einem Stift verwachsenen Kotyledonen. Vergr. 5 ×.

Abb. 4. *Z-amphivelutina helix* im Freiland geschoßt.

einige wenige Seitentriebe I. Ordnung über der Rosette gebildet werden. Die mittlere Sonnenscheinstundenzahl[1] je Tag betrug im Jahre 1953 vom 1. Mai bis zum 30. September 7,0, im gleichen Zeitraum des Jahres 1954 aber nur 5,9; und 1954 traten weniger Achseltriebe auf als im Jahre 1953.

Nicht selten entsteht jedoch aus der Achsel eines der unteren Stengelblätter ein ziemlich starker Seitensproß, der, solange der Vegetationspunkt des Haupttriebes noch intakt ist, plagiotrop wächst, aber sich nach dessen Absterben aufrichtet (vgl. Renner, S. 32, Abb. 4). Meistens fehlen die Seitentriebe ganz.

[1] Die Angaben über die Sonnenscheinstundenzahl wurden uns freundlicherweise vom Deutschen Wetterdienst, Wetteramt München, zur Verfügung gestellt; sie sind im Botanischen Garten registriert worden.

Bei genauerem Zusehen findet man häufig in den Blattachseln kleine gehemmte Sprößchen, die sich mit der Bildung eines sehr kleinen flachen oder öfter spitztütenförmigen Blattes oder gar nur eines 10 mm langen Stiftchens erschöpfen.

Die Blätter der blühbaren Seitentriebe sind nicht epinastisch gesenkt; nur bei einer Pflanze, die sehr früh zum Schossen kam, wurde an den ersten Blättern des ersten Seitentriebes eine schwache Abwärtsfaltung beobachtet. Seitentriebe II. Ordnung werden niemals ausgebildet.

Bleiben die Rosetten im Gewächshaus, so schossen sie hier viel später, wohl als Folge des schwächeren Lichtes. Die schossende Pflanze wächst indes lange fort, entbehrt meist jeden Seitentriebes und neigt die Blätter nur schwach nach unten (Abb. 15, linke Pflanze); die Brakteen bleiben ungewellt; Blüten werden sehr wenige gebildet, meist waren es neben einigen rudimentären nicht mehr als 5. Der Vegetationspunkt erschöpft sich ebenfalls früh in einer Blüte, die nicht zur Entwicklung kommt.

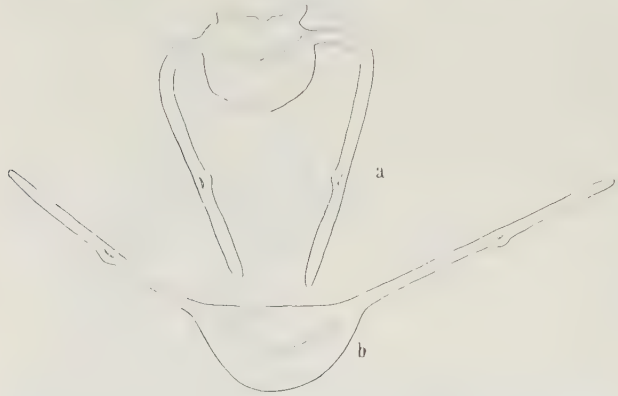


Abb. 5a u. b. Querschnitte durch Nerv und Spreite: a eines gefalteten Blattes von *Z-amphivelutina helix*; b eines normalen Blattes von *Z-amphivelutina*. Vergr. 6×.

Die Blattkrümmung. Die epinastischen Blattkrümmungen haben ihre Ursache in einem stärkeren Wachsen des Blattnervs, dem die Spreite nicht folgen kann; die dadurch entstehende Spannung wird durch Abwärtsfalten der Spreite fast kompensiert, bringt aber die Blatträndер gelegentlich zum Einreißen. Abb. 5a zeigt einen Querschnitt durch den Blattnerv und die scharf nach unten gefaltete Spreite von *Z-amphivelutina helix*; darunter ist der Blattnerv einer normalen Pflanze mit der schwach nach oben gehobenen Spreite dargestellt (Abb. 5b).

Tabelle 1.

Blatt über dem Erdboden	Zuwachs in cm		Krümmung des Blattes
	Nerv	Spreite	
10.	2,45	2,40	sehr schwach
11.	2,40	2,00	schwach
12.	3,00	0,70	sehr stark (Einrollung)
13.	2,30	2,05	schwach

Messungen an 4 ungleich stark gekrümmten Blättern ergaben folgenden Zuwachs des Nervs und der Spreite nach 8 Tagen (s. Tabelle 1):

Im Gegensatz zum 10. Blatt über dem Erdboden, bei dem die Epinastie sehr schwach ist und der Zuwachs der Spreite mit dem des Nervs Schritt halten kann, krümmt sich das 12. Blatt sehr stark, da das Wachstum der Spreite außerordentlich stark hinter dem des Nervs zurückbleibt.

Die eingerollten Blätter der *helix* sind länger als die der Normalpflanzen. Die aus je 12 Werten errechnete mittlere Blattlänge des jeweils 15. Blattes vom Hauptsproß beträgt für *helix* 14,6 ± 0,46 cm, für normal 13,5 ± 0,30 cm.

Die Blätter der *helix*-Pflanzen sind also im Durchschnitt um 1,1 cm (11%) länger als die der normalen Pflanzen. (Statistische Sicherung nach dem *t*-Test: $D = 1{,}1$; $\sigma_D = 0{,}13$; $3{,}4\,\sigma_D = 0{,}44$; $D > 3{,}4\,\sigma_D$.)

Veloblandina helix beim Schossen. Veloblandina helix schoßt später als *Z-amphivelutina helix* und senkt die Stengelblätter nur schwach nach unten. Achseltriebe sind bei ihr nicht so selten, und auch an Blüten ist sie reicher.

Alle Hemmungserscheinungen in der Achseltriebbildung finden sich jedoch auch bei ihr. Das Wachstum des Haupttriebes endigt zwar auch früher als bei den gesunden Oenotheren mit einer Blüte, doch liegt sein Absterben lang hinter dem der *Z-amphivelutina helix*. Im Gewächshaus bildet sie selten mehr als einen Seitentrieb und ebenso nur wenig Blüten. Ihre Blätter senkt sie im schwächeren Licht niemals: *veloblandina helix* zeigt die *helix*-Charaktere schwächer als *Z-amphivelutina helix*.

Hemmung der Verzweigungen. Ein länger anhaltendes Merkmal als die Blattkrümmung ist der schon bei Renner (S. 30) beschriebene unverzweigte Stengel. Allerdings ist nach unseren Erfahrungen die Zahl der Achseltriebe durch günstige Umwelteinwirkungen beeinflußbar. In der Vegetationsperiode 1953 trat einmal spontan bei *Z-amphivelutina helix*, die alle *helix*-Merkmale am deutlichsten zeigt, eine Pflanze auf, die 7 Achseltriebe besaß, welche aber nicht alle zum Blühen kamen.

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Anzahl der Verzweigungen bei einigen *helix*-Familien aus dem Jahre 1954.

Tabelle 2.

Stamm	Achseltriebanzahl															Summe der Pflanzen
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Veloblandina helix . . .	2	4	11	15	17	21	19	17	15	13	10	6	3	2	—	155
Veloblandina helix . . .	—	2	5	6	5	10	4	7	4	5	3	1	—	1	—	53
Z-amphivelutina helix .	74	19	5	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	99
Z-amphivelutina helix .	34	25	7	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	68

Die Pflanzen der *Z-amphivelutina helix* bleiben meist unverzweigt, dagegen bilden die meisten der *veloblandina helix*-Pflanzen 4—6 Achseltriebe aus. Den höchstens 13 Achseltrieben der *veloblandina helix* stehen 25—39 Verzweigungen der normalen *Z-amphivelutina* gegenüber.

Einige der bei *helix*-Pflanzen sich anfänglich gut entwickelnden Seitentriebe stellen schon vor der Ausbildung von Blüten ihr Wachstum ein; die meisten Seitenzweige blühen aber noch, wenn auch recht spät — meist erst nach dem Abblühen des Haupttriebes — und stellen dann ihr Wachstum mit einer vertrocknenden Endblüte ein. Die Inflorescenzen sind nicht dichter als beim Hauptsproß und zeigen die gleichen Blütenrudimente.

3. Die blühbaren Sprosse. Wie schon eingangs erwähnt, erfahren viele Blüten Abwandlungen, die sich auf alle ihre Teile erstrecken. Häufig erscheinen dreigliedrige Blattkreise (Renner, S. 37), wobei dann auch die Narbenlappen meist auf 3 vermindert sind; ferner treten zweigliedrige Blüten auf, die zu noch stärker gehemmten überleiten, bei denen die Kelchblätter — meist sind es nur noch zwei — keine Blütenteile mehr einschließen; die am stärksten gehemmten Blüten

schließlich bestehen nur noch aus einem zwei- bis dreizipfligen Gebilde oder gar nur einem Stiftchen (vgl. S. 276 oben).

Die wenigen gesunden Blüten stehen meist an den letzten 15 cm der Triebe, wodurch der Eindruck eines lockeren Blütenballes entsteht; ein Trieb bringt selten mehr als 12 befruchtungsfähige Blüten zur Entwicklung, ganz im Gegensatz zu der Normalform, die 60 und mehr Blüten an einem Stengel entwickeln kann.

Die Früchte erscheinen meist kurz gestielt, wachsen schneller und bleiben länger grün. Die Zähne des Krönchens sind länger als gewöhnlich.

Somit ergeben sich als *helix*-Charaktere:

1. Hemmungsformen auf dem Keimblattstadium, die bis zu 60% der Pflanzen erfassen können.
2. Hemmung oder völliges Fehlen von Verzweigungen.
3. Epinastie und schneckenartige Einrollung der Stengelblätter.
4. Hemmungserscheinungen in der Blüten- und Fruchtbildung.
5. Frühzeitiges Absterben des Hauptvegetationspunktes.

Davon sind die Punkte 2, 3 und 4 durch Außenbedingungen beeinflußbar.

Es liegt nahe, an einen Einfluß von *Wuchsstoff* zu denken, zumal so empfindliche Wuchsstoffanzeiger wie Seitentriebe und Blüten von Hemmungserscheinungen betroffen sind (vgl. RENNER 1953, S. 36).

III. Zur Anatomie.

Die Schnitte wurden wo möglich mit der Hand angefertigt, sonst mit dem Mikrotom nach Fixierung mit Nawaschin und Einbettung in Paraffin.

1. Die Vegetationspunkte. Der Vegetationspunkt gehemmter Keimpflanzen liegt oft im Grund eines engen, meist gekrümmt verlaufenden Kanals, der durch Verwachsung der Keimblattbasen gebildet ist (Abb. 6b—d). Er stellt

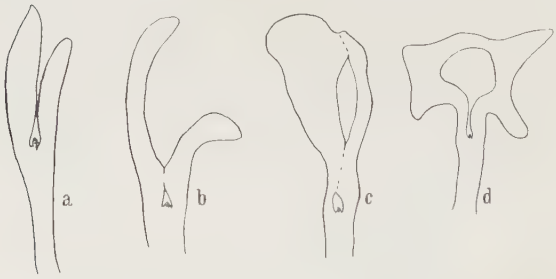


Abb. 6a—d. a Längsschnitt durch eine junge Keimpflanze von *Z-amphivelutina*. Vergr. 12×. b, c, d Längsschnitte durch junge Keimpflanzen von *Z-amphivelutina helix*, bei denen der Vegetationspunkt überwachsen ist. Vergr. 12×.

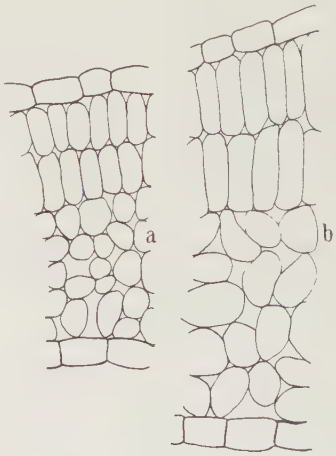
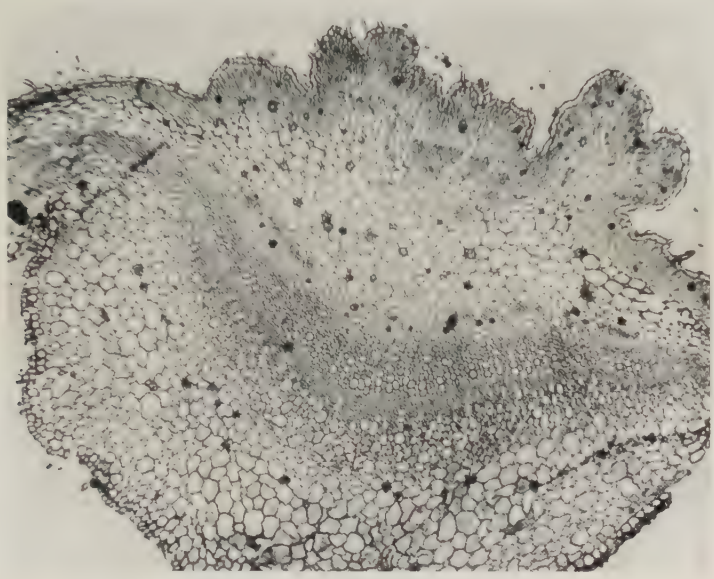


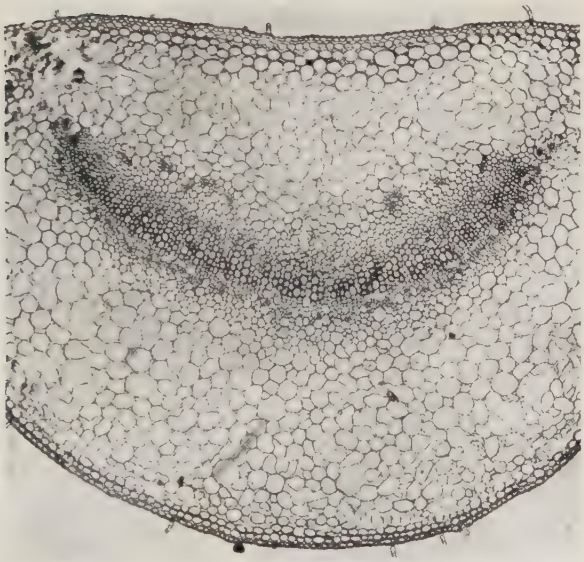
Abb. 7a u. b. Querschnitte durch die Blattspreite; a von *Z-amphivelutina*; b von *Z-amphivelutina helix*. Vergr. 250×.

das Teilungswachstum früh ein, und seine Zellen strecken sich dann noch eine Zeitlang. Die Vegetationskegel von 14 Tage alten gehemmten Sämlingen sind etwa 45 μ lang, während die von 5 Tage alten normalen 70 μ lang sind (Abb. 6a). Mit der Zeit verwächst die Kotyledonarröhre so vollständig, daß der Vegetationspunkt fast ununterscheidbar im umgebenden Gewebe verschwindet.

Das Hypokotyl schwillt schon bei sehr kleinen stark gehemmten Sämlingen an (Abb. 3).



a



b

Abb. 8a u. b. Blattnerv im Querschnitt, a von *Z-amphivelutina helix*, b von *Z-amphivelutina*. Vergr. 100 ×.

Die Kotyledonarbecherchen, sowie andere Verwachsungstypen, weisen ein lockeres Assimilationsgewebe auf, in dem sich einige meist regellos verstreut liegende Leitbündel finden. Das Kotyledonargewebe der normalen Keimpflanzen ist dagegen etwas dichter und wird von regelmäßig verlaufenden

Leitbündeln durchzogen. Erschöpft sich der Vegetationspunkt in einem stiftchenförmigen Folgeblatt, das eine Länge von 1—1,5 cm selten überschreitet, findet man darin lediglich Parenchymzellen, aber kein Leitgewebe.

2. Die Blätter. Die bei RENNER (S. 35 und 38) erwähnten dicken Blätter der *helix*-Pflanzen verdanken ihr fast succulentes Aussehen einer Größenzunahme der Palisaden- und Schwammparenchymzellen; ihre Zahl ist nicht vermehrt (Abb. 7). Die Epidermiszellen sind gleich groß wie bei den Normalpflanzen, ebenso die Chloroplasten.

Abb. 9. Längsschnitt durch eine stark gehemmte Achselknospe von *Z-amphivelutina helix*. Vergr. 10 ×.

Die aus 24 Einzelwerten errechnete mittlere Blattdicke beträgt für *helix* 0,56 ± 0,04 mm, für normal 0,45 ± 0,03 mm, wobei jeder Einzelwert jeweils von einer Pflanze stammt. Die *helix*-Blätter sind um 24% dicker als die normalen Blätter.

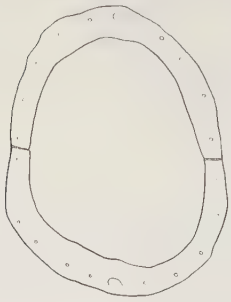
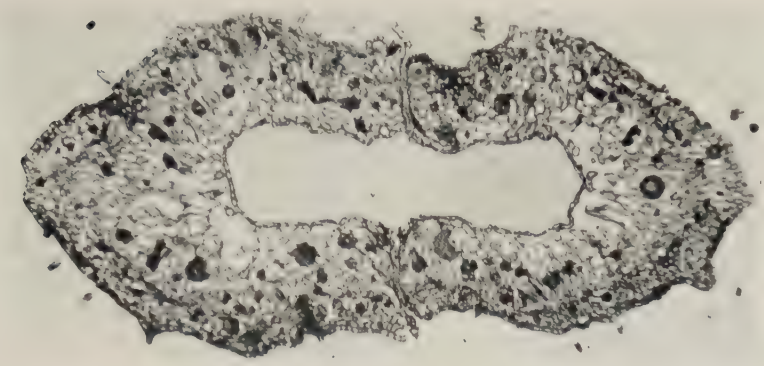


Abb. 10 a. (Unterschrift s. S. 275). Vergr. 17×.

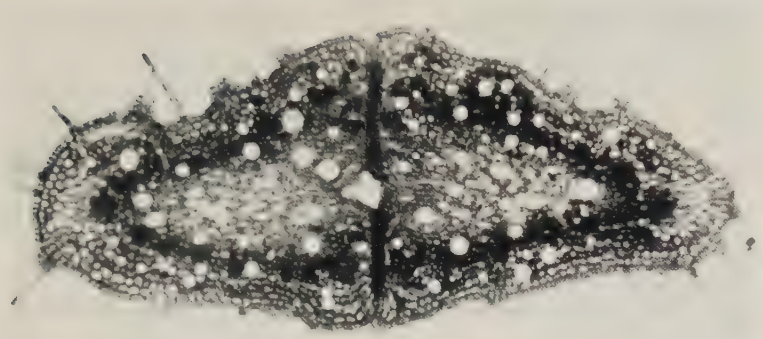
Über den Blattnerv der gekrümmten Blätter erstreckt sich unter einer mit Spaltöffnungen versehenen Epidermis ein Palisadenparenchym, und häufig besitzt diese chlorophyllreiche Zone tumorartige, von Leitgewebe durchzogene Auswüchse (Abb. 8a). Das farblose Kollenchym, das gewöhnlich den Blattnerv zu der von Stomata freien Epidermis hin begrenzt (Abb. 8b), ist verschwunden, oder, wo es noch ein wenig erhalten ist, mit Chloroplasten angefüllt. Das nach unten anschließende Parenchym ist, wie auch jene Wucherungen, von kleinen Leitgewebesträngen durchzogen, die meist nur aus 2 oder 3 Gefäßen und wenigen Siebröhren bestehen. Je stärker die Krümmung ausgeprägt ist, desto häufiger treten diese Leitstränge auf; gegen die Spitze der gekrümmten Blätter verschwinden sie. Die Brakteen sind von einer Krümmung und deren Begleiterscheinungen ausgenommen.

3. Die Achseltriebe. Weitaus die meisten Achseltriebe bestehen nur aus einem Blatt, einem Spitztütchen oder gar nur einem kurzen, etwa 1—1,5 cm langen Stiftchen; wo auch dieses fehlt, ist zumindest seine Anlage in der Blattachsel zu entdecken, ohne daß sie zur Entwicklung kommt. Abb. 9 zeigt den Längsschnitt durch einen Achseltriebansatz, der nur aus einer schwachen Vorwölbung ohne Leitgewebe besteht. Zwischen dieser sehr starken Hemmung und der normalen Ausbildung des Achseltriebes kommen alle Übergänge vor. Im Gegensatz zu den leitbündelfreien Stiftchen der „blinden" Keimpflanzen besitzen hier auch recht kleine Stiftchen noch ein schwaches Leitbündel. Eine Anlage zur Verzweigung ist also in jeder Blattachsel vorhanden; die Hemmung kann jedoch so weit gehen, daß nur mehr eine schwache Vorwölbung angedeutet ist.

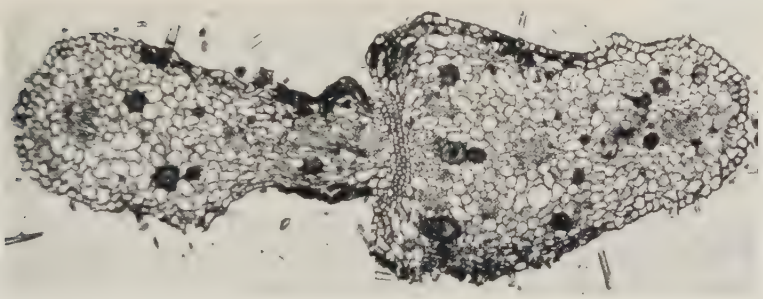
4. Die Blüten. Starke Störungen treten in der Blütenbildung auf. Es kommen Blüten vor, bei denen nur 2 Kelchblätter normal ausgebildet sind (Abb. 10a), und auch die anderen Blattkreise dieser Blüten sind zweigliedrig. Solche Blüten können manchmal Fruchtknoten haben, die keimfähige Samen bilden, meist ist aber bei diesen Blüten der Fruchtknoten nicht entwicklungsfähig.



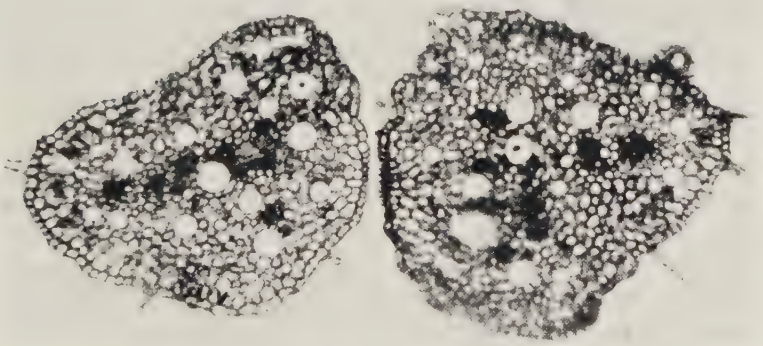
b



c



d



e

Abb. 10a—e. Querschnitte durch gehemmte Kelche von *Z-amphivelutina helix*. Vergr. b—e 30×.

Häufig auftretende Formen bestehen aus 2 kleinen, von Leitbündeln durchzogenen Kelchblättern, die keine weiteren Blütenorgane einschließen. Bei diesen Hemmungsformen nimmt der bei normalen Kelchblättern schmale, innere Schwammparenchymring zu und verkleinert den Raum, der sonst die Blütenorgane beherbergt (Abb. 10b und c). Die Naht, in der die klappig aufeinander stoßenden Kelchblätter sich mit den Epidermen verzahnen, ist noch wohlausgebildet, und sogar bei einer noch stärkeren Hemmung der Blüte, wo nur noch 2 flache (Abb. 10d) oder säulenförmige (Abb. 10e) Kelchblätter sich mit *einem* Rande berühren, verzahnen sich die Epidermen auf den Berührungsflächen; solche rudimentären Kelchblätter trennen sich niemals. Die letzte Stufe schließlich vor der vollkommenen Unterdrückung der Blüte ist ein von einem oder 2 Gefäßbündeln durchzogenes Stiftchen.

5. Die Früchte. Auch der Fruchtknoten bleibt von Mißbildungen nicht verschont. Wie RENNER (S. 33) beschreibt, sind die Früchte „im untersten Drittel nicht selten dünn und leer". Dieses augenfällige Merkmal beruht auf einem Fehlen der Placenten und damit der Samen; kleine Hohlräume an Stelle fertiler Fächer sind manchmal noch vorhanden. Erst gegen die Mitte des Fruchtknotens zu erscheinen in den hier weiteren Fächern Samenanlagen, die dann gegen die obere Hälfte an Zahl noch zunehmen können; unter 50 Früchten waren 35 halbsteril.

Stärker gehemmte Blüten besitzen zweifächerige, aus 2 Fruchtblättern gebildete Fruchtknoten, die nur selten keimfähige Samen ausbilden können; meist sind diese starken Hemmungsbildungen ganz steril. Einfächerige Fruchtknoten wurden nicht beobachtet.

6. Das sekundäre Dickenwachstum. Der Umfang des Stengels erfährt bei den Oenotheren durch sekundäres Dickenwachstum eine beträchtliche Zunahme, die bei *helix*-Pflanzen besonders ausgeprägt ist (vgl. RENNER, S. 33, Abb. 5); hierfür ist in erster Linie, wie monatliche Messungen an Querschnitten von Helix- und Normalpflanzen zeigten, der ziemlich gefäßarme Holzkörper verantwortlich. Das übermäßige Dickenwachstum der *helix*-Stengel beginnt erst im August.

7. Das Polyderm. Charakteristisch für den Stengel der Oenotheren ist der Besitz eines Polyderms (MYLIUS 1913, S. 85; RENNER u. SCHMIDT 1952, S. 421). Das Polyderm entsteht dicht unterhalb des Sklerenchymmantels (vgl. MYLIUS), der schon recht frühzeitig angelegt wird und dessen Fasern mit der Zeit durch Verdickung der Wände immer englumiger werden. MYLIUS sowie RENNER u. SCHMIDT haben das Polyderm nur 10 cm weit von der Wurzel her in den Stengel hineinreichen sehen; wir fanden es noch bis zu 50 cm weit im Stengel bei ausgewachsenen Pflanzen.

Der Sklerenchymmantel wird zusammen mit der Außenrinde abgestoßen, so daß das darunter liegende Polyderm schließlich die äußere Begrenzung bildet. MYLIUS zählt den Sklerenchymring zur Außenrinde, aber WEISS (1890) stellt ihn zum Zentralzylinder. Im Stengel der Oenotheren kommt eine Endodermis nicht vor, dafür aber eine Stärkescheide, die in jungen Pflanzen deutlich zu sehen ist und außerhalb des Sklerenchymmantels liegt; somit gehört der Sklerenchym-

ring nicht zur Außenrinde, und dieses geben Renner u. Schmidt (S. 422) auch für das nahe verwandte *Epilobium montanum* an, bei dem der Sklerenchymmantel innerhalb einer deutlichen Endodermis liegt.

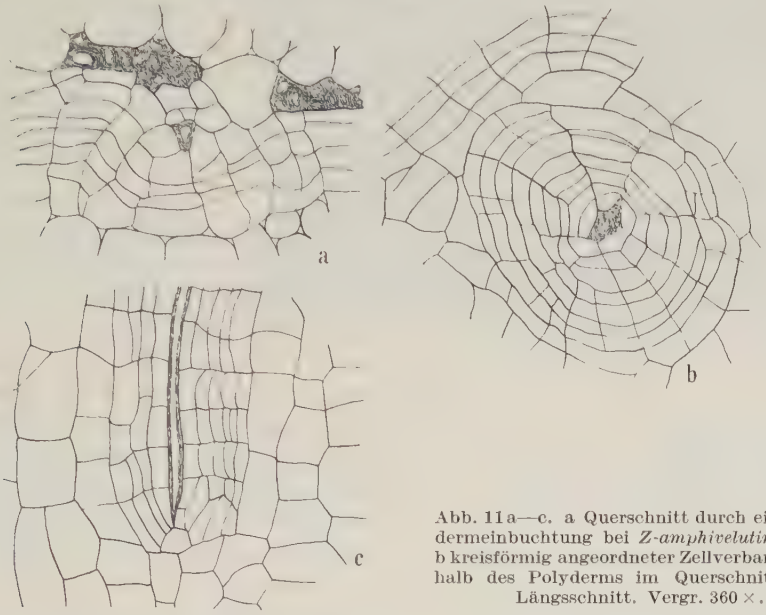


Abb. 11a—c. a Querschnitt durch eine Polydermeinbuchtung bei *Z-amphivelutina helix*; b kreisförmig angeordneter Zellverband unterhalb des Polyderms im Querschnitt; c im Längsschnitt. Vergr. 360 ×.

Bei *Z-amphivelutina* kommt es häufig vor — selten auch bei anderen Formen —, daß einzelne Sklerenchymzellen vom zusammenhängenden Sklerenchymring

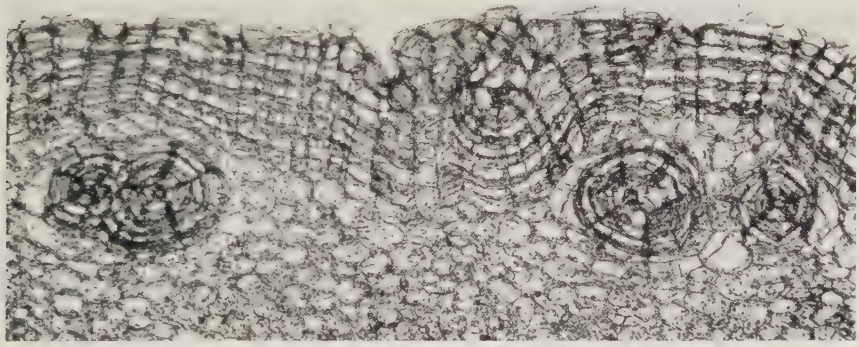


Abb. 12. Querschnitt durch das Polyderm von *Z-amphivelutina helix* mit zahlreichen darunterliegenden Polydermnestern. Vergr. 200 ×.

nach innen abgetrennt werden. Liegt eine solche Faser nahe dem Ring, so buchtet sich das Polyderm an der betreffenden Stelle nach innen vor (Abb. 11a), wie in der Borke z. B. der Eiche oft Korkschichten um Sklerenchymzellen herumlaufen. Ist die Faser aber weit ins Phloëm verschoben, so läuft die Polydermlamelle ohne Störung unter dem Sklerenchymring fort und um die isolierte Faser entsteht durch Zellteilungen im umgebenden Phloëm ein vielschichtiger

zylindrischer Mantel von Zellen, die durchaus denen des Polyderms gleichen (Abb. 11b und c); der Querschnitt durch diese Polydermscheide erinnert an ein Spinnennetz. Abb. 12 zeigt den Schnitt durch eine Polydermzone mit zahlreichen darunter liegenden „Polydermnestern".

Das Polyderm entsteht im Stengel also erst, wenn das Sklerenchym fertig ausgebildet ist. Aus der Erfahrung, daß sich um weitab im Phloëm liegende Sklerenchymzellen herum kreisförmig angeordnete Polydermzellen bilden, ist wohl zu schließen, daß auch die Polydermlamelle durch den Sklerenchymring induziert wird, vielleicht durch Stoffe, die aus den reifen (toten ?) Sklerenchymfasern diffundieren.

Ähnliche Erscheinungen konnte CZAJA (1953) an Stengelquerschnitten von *Vitis vinifera* beobachten: hier bilden sich um isoliert liegende, alte sekundäre Bastbündel lokale Periderme aus, die der Autor auch experimentell durch eine Verschiebung der Bastfasern erzielen konnte.

IV. Zur Physiologie.

1. Transplantierungen. Um der Klärung einer Wuchsstoffstörung näher zu kommen, pfropfte RENNER (S. 36) *helix*-Reiser auf normale Unterlagen und umgekehrt; er konnte jedoch in keinem Fall eine Beeinflussung feststellen. Durch Pfropfung von Reisern der *Oe. Hookeri* auf Rübenwurzeln „blinder" Sämlinge von *Z-amphivelutina helix* konnte RENNER (S. 31) diese Rüben sogar zum Bestandteil gesunder reichblütiger Pflanzen machen.

Diese Versuche wurden von uns wiederholt, wobei darauf geachtet wurde, daß die Unterlage wachsende Seitensprosse behielt, wie es RENNER vorschlug. Es wurde dabei teilweise so verfahren, daß eben schossende *helix*-Triebe in die Blattachsel eines ebensolchen Normaltriebes gesenkt wurden (5 Versuche), oder umgekehrt (5 Versuche). Ferner gelangten normale Haupttriebe und grundständige Seitentriebe auf *helix*-Unterlagen oder umgekehrt zur Pfropfung (jeweils wieder 5 Versuche), und schließlich wurde ein *helix*-Trieb jeweils mit einem Grundseitenzweig einer dicht daneben stehenden Normalpflanze auf dem Weg des Anplattens verbunden (10 Versuche).

Alle zum Pfropfen bzw. Anplatten bestimmten Triebe waren etwa 6 Tage alt, vom ersten Tag des Schossens gerechnet. Die Pflanzen wurden 3 Tage vor der Operation vom Freiland ins Gewächshaus geholt und in Töpfe gesetzt. Nach dem Pfropfen bzw. Anplatten standen sie zur Sicherung der Verwachsung 14 Tage im Schwitzkasten, darauf noch wenige Tage zur Gewöhnung an trockenere Luft im Gewächshaus, und schließlich wurden sie wieder ins Freiland gesetzt. Der Aufenthalt im diffusen Gewächshauslicht betrug maximal 21 Tage.

Das zunächst auffälligste Resultat der Pfropfungen war das Aufhören der Blatteinrollungen bei *helix*-Reisern; es trat nur eine schwache Epinastie ein. Ferner blieben die Wucherungen auf dem Mittelnerv der Helixpflanzen aus. Die Normalpflanzen auf *helix*-Unterlage zeigten eine Hemmung der Achseltriebe; diese wurden zwar angelegt, trieben aber nicht aus, sondern blieben auf einem 0,5—1 cm großen Stadium stehen. Ähnliche geringe Veränderungen traten an den angeplatteten Sprossen auf. Wir vermuteten zunächst eine Beeinflussung durch die Unterlage bzw. durch das Reis.

Entscheidend waren indes Pflanzen, bei denen *helix*-Rosetten auf normale und umgekehrt gepfropft wurden. Teilweise schon im Jahre 1952 transplantiert, kamen diese im Jahre 1954 zum Schossen, und zwar einige im Freiland, einige im Gewächshaus.

Abb. 13. *Z-amphivelutina helix* als Reis auf *biennis*-Unterlage im Freiland geschoßt.

Die mit *helix* als Reis im Freiland geschoßten zeigten alle *helix*-Charaktere in gewohnter Weise (Abb. 13), während die Gewächshausexemplare die Merkmale nur schwach oder gar nicht ausbildeten (Abb. 14). Sie hatten das gleiche Aussehen wie die auf S. 270 beschriebenen, im Gewächshaus geschoßten *helix*-Pflanzen. Die mit normalem Reis im Freiland geschoßten entwickelten sich zu kräftigen, blütenreichen Pflanzen, ihre Geschwister im Gewächshaus blieben dagegen unverzweigt, d. h. die Achseltriebe entwickelten sich nur bis zu einer Größe von 0,5—1 cm; lediglich die letzten Achseltriebe unterhalb der Blüten trieben aus. Sonst waren diese Pflanzen unverändert.

Ein ähnliches Bild ergab eine Pflanze mit normalem Reis auf *helix*, die im Gewächshaus zum Schossen kam und nach 3 Wochen ins Freiland gesetzt wurde. Bei dieser Pflanze genügte schon die Zeit, die sie während der ersten Schossungstage im Gewächshaus stand, um ihr den Habitus einer Gewächshauspflanze zu geben, der auch durch nachträglichen Aufenthalt im Freiland nur noch schwach verändert wurde.

Ähnlich ist das Verhalten der vorher beschriebenen Pfropfungen zu verstehen. Die wenigen Tage, die sie im Freiland schossend zubrachten, bevor sie gepfropft wurden, prägten ihnen weitgehend den Habitus von Freilandpflanzen auf; die schwächere Blattkrümmung und das Fehlen der Wucherungen

Abb. 14. *Z-amphivelutina helix* als Reis auf *biennis*-Unterlage im Gewächshaus geschoßt.

auf dem Mittelnerv bei *helix* ist eine Folge des frühen Transportierens ins Gewächshaus.

Es konnte also an dem vorliegenden Material kein direkter Einfluß des Reises oder der Unterlage festgestellt werden, was mit den Beobachtungen RENNERS (S. 36) übereinstimmt. Die zunächst vorgetäuschte Beeinflussung der *helix*-Reiser durch normale Unterlagen war wohl durch die Änderung der Lichtintensität bedingt, die an einem normalen Sommertag im Gewächshaus etwa 10000 Lux, im Freiland aber etwa 50000 Lux beträgt.

Einen gewissen Einfluß mag die Pfropfung selbst ausüben, da sie ja für einige Zeit, bis die Schnittflächen miteinander verwachsen sind, eine Nährstoffverminderung herbeiführt, die sich erst allmählich ausgleicht.

2. Dekapitierungen. Durch Vorversuche hatten wir festgestellt, daß die normale *Z-amphivelutina* auf Abschneiden der Gipfelknospe mit einem verstärkten Austreiben der Achseltriebe antwortete. Es sollte nun bei der *helix*-Mutante geprüft werden, ob auch sie fähig ist, nach Entfernung des Hauptvegetationspunktes Verzweigungen zu bilden, und wieweit die Gipfelknospe die Hemmung der Seitentriebe beeinflußt.

An eben schossenden Pflanzen wurde die Gipfelknospe nach Ausbildung des 2., 3. usw. bis 17. Stengelblattes entfernt und einen Monat später das Resultat in folgende Tabelle eingetragen.

Tabelle 3.

Anzahl der Verzweigungen	Dekapitiert nach Blatt																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
0	○○	○○	○○	○○	○○		○	○○	○○		○			○	○○	○	
1						○	○			○	○	○	○○	○		○	
2						○				○		○					○
3																	○
4																	

Jeder Kreis steht für eine Pflanze.

Die Anzahl der Verzweigungen bleibt auch nach Dekapitation sehr gering. Es wurden nur die Seitentriebe in die Tabelle aufgenommen, die mindestens 5 Blätter gebildet hatten, so daß Achseltriebe, die nur aus einem Blatt, einem Stiftchen oder einer Tüte bestanden, keine Erwähnung finden.

Danach scheinen die Achselknospen der Helixpflanzen schon durch Wirkungen, die wohl nicht von der Gipfelknospe — vielleicht von den Blättern ? — ausgehen, so stark gehemmt zu werden, daß das Wegfallen einer zusätzlichen Hemmung durch die Gipfelknospe wenig oder nicht ins Gewicht fällt.

Ein ähnliches Bild ergab die Dekapitation bei *veloblandina helix*. Auch hier ist die normale Pflanze reich verzweigt, die Helixform bildet weniger Seitentriebe (vgl. Tabelle 2, S. 271). Durch Dekapitation konnten auch bei dieser Verbindung nicht mehr Verzweigungen erzielt werden.

Nach den Ergebnissen dieser Versuche hielten wir die Erschließung des Wuchsstoffhaushaltes der Helix- und der Normalform zum weiteren Verständnis für notwendig.

3. Wuchsstoffteste. Die ersten Vorversuche, bei denen der Tageslichttest nach Söding angewendet wurde, ergaben im Jahre 1953, daß die *helix*-Mutante mehr Wuchsstoff an Agar abgibt als die normale Pflanze; zum Testen gelangten hierbei Gipfel des Hauptsprosses und Blattstiele.

Im Jahre 1954 wurden die Versuche mit dem Originaltest nach Went (1929) wieder aufgenommen. Die Haferkörner (verwendet wurde Svalöfer Siegeshafer der Firma Nordsaat Waterneverstorf in Holstein) wurden entspelzt und in großen Glasdosen vorgekeimt. Zum Abfangen des Wuchsstoffes aus den Pflanzenteilen wurden Agarblöckchen nach den Angaben von Söding hergestellt; die Abfangzeit betrug jeweils $1^1/_4$ Std, und nach $2^1/_4$ Std Einwirkung des Wuchsstoffes auf die Koleoptile wurde die Krümmung mit dem bei Söding (1934, S. 233, Fig. 1) angegebenen Krümmungsmesser bestimmt. Alle Arbeiten wurden in der im Keller gelegenen Dunkelkammer ausgeführt, die die Temperatur (meist 18° C) und die Luftfeuchtigkeit (meist 82%) weitgehend konstant hielt.

Unter diesen Bedingungen ergab eine 10^{-7} molare Heteroauxinlösung einen Krümmungswinkel, der zwischen 8 und 10° lag, eine 10^{-5} mol/l Lösung einen solchen von 16—18°; mit 10^{-4} molaren Lösungen ließen sich Krümmungen zwischen 30 und 33° erzielen, während die Konzentration 10^{-3} mol bereits auf dem absteigenden Ast der Kurve lag und die Testpflanzen nur mehr um 9—10° krümmte.

Eine statistische Sicherung nahe beieinander liegender Werte wurde mit dem *t*-Test (Weber 1948, S. 181ff.) durchgeführt, und außerdem prüften wir die Testreihen auf ihre Homogenität mit dem von Lode (1948, S. 89ff.) entwickelten „Graphischen Verfahren zum Ausgleich wiederholter Messungen".

Eine Klärung verlangte zunächst die Frage, wieviel Wuchsstoff die Helixpflanze mehr abgibt als die normale, und wie sich dieses Verhältnis im Laufe der Entwicklung gestaltet; ferner sollten an Hand vergleichender Teste die einzelnen Pflanzenteile auf ihre Wuchsstoffabgabe verglichen werden. Endlich sollte geprüft werden, wie weit sich der Wuchsstoffhaushalt verändert, wenn das *helix*-Gen in einer anderen Komplexverbindung als *velans · Z-velans* enthalten ist; hierfür stand die Verbindung *veloblandina* (*velans* · ^{h}*blandina*) zur Verfügung.

Daran angeschlossen wurden emige Teste, die einen Einblick in die Wuchsstoffabgabe von Gewächshauspflanzen gegenüber Freilandexemplaren geben sollten und hauptsächlich an Laubblättern ausgeführt wurden. Schließlich testeten wir die von Renner (S. 37) wegen der schwachen Epinastie ihrer Laubblätter mit der *helix*-Mutante in Beziehung gesetzte 15-chromosomige Mutante *dependens*, und zwar von der *Oe.* (*silesiaca* × *albilaeta*) *subpictilaeta*.

a) Wuchsstoffabgabe der Gipfelknospe von normal und helix. Die Wuchsstoffteste wurden 1954 wieder aufgenommen, als die Pflanzen etwa 15 cm hoch waren. Die Helixpflanzen standen zu dieser Zeit völlig unverzweigt da, von einzelnen Stiftchen in den Blattachseln abgesehen, während die normalen etwa 4—5 kräftige grundständige Seitentriebe und dazu in jeder Blattachsel des Stengels einen kurzen Trieb entwickelt hatten. Die Blätter waren bei *Z-amphivelutina helix* etwa vom 10. Blatt an eingerollt, jüngere vorerst nur epinastisch gesenkt; die entsprechenden Blätter der Normalpflanzen waren gerade. Zum Abfangen des Wuchsstoffes wurden die Gipfelknospen 1 cm unterhalb der Spitze abgeschnitten und auf eine Knospe je ein Agarblöckchen gelegt.

Ein Versuchsprotokoll vom 25. Juni 1954 gibt Tabelle 4; die Zahlen bedeuten Krümmungswinkel in Grad.

Das Ergebnis ist eine Bestätigung der Vorversuche: Die *helix*-Mutante gibt an Agar weit mehr Wuchsstoff ab als die normale Pflanze; dazwischen liegt *veloblandina helix*, was zu erwarten war, da diese Verbindung alle *helix*-Charaktere abgeschwächt zeigt.

Die Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die Wuchsstoffabgabe der Gipfelknospen während einer Vegetationsperiode. Jeder Wert ist das Mittel aus 10 bis 12 Einzelwerten.

Z-amphivelutina helix gibt bei einer Höhe von 20 cm am meisten Wuchsstoff ab, während die Normalpflanzen ihr Wuchsstoffmaximum erst bei 30 cm Höhe erreichen. Bei einer Größe von 60 cm stellen die *helix*-Mutanten ihre Wuchsstoffabgabe ein, und zu diesem Zeitpunkt hat sich der Vegetationspunkt auch in einer Endblüte erschöpft. Die normalen Individuen setzen dagegen ihr Wachstum noch lange fort; erst einen Monat später, bei einer Größe von 100 cm, gibt ihre Gipfelknospe keinen Wuchsstoff mehr ab; auch hier endet zu dieser Zeit das Wachstum mit einer Blüte. Bereits am 30. Juni, im Test IV, kaum einen Monat nach dem Einsetzen des Schossens, überragt der Wuchsstoffgehalt der normalen Gipfelknospe den der *Z-amphivelutina helix* beträchtlich. Dieses Übergewicht bleibt längere Zeit, sinkt dann bei der normalen ab und erreicht die Höhe der Mutante. Sehr bald sinkt danach die Wuchsstoffabgabe der *helix*-Pflanzen ab und erlischt.

Tabelle 4.

Z-amphivelutina helix	Z-amphivelutina normal	Veloblandina helix	IES 10^{-7}
26	12	17	7
22	13	17	11
24	13	18	12
22,5	16	15	10
29	14,5	19	11
25	9	19	9
28	16	15	12
15,5	13,5	15	
23	19	18	
19	12	16	
		18	
23,0 ± 1,26	13,8 ± 0,87	17,0 ± 0,46	10,1 ± 0,68

Temperatur 18° C; Luftfeuchtigkeit 82 %; Wetter sonnig; Testdauer 7^{40}—11^{15}; Höhe der Planzen 20 cm; statistische Sicherung nach dem *t*-Test: Z-amph. normal gegen velobl. *helix*; $D = 3{,}2$; $\sigma_D = 0{,}30$; $3{,}4\,\sigma_D = 1{,}02$; $D > 3{,}4\,\sigma_D$. *Z-amphivelutina* normal gegen *Z-amphivelutina helix* bedarf keiner statistischen Sicherung.

Tabelle 5.

Tag des Testes und Nr.	Z-amphivelutina helix	Z-amphivelutina normal	Veloblandina helix	β-IES	Höhe der Pflanzen cm	Temperatur im Testraum °C
22. 6./I	20,7 ± 1,23	13,0 ± 0,77	13,4 ± 1,09	29,9 ± 2,97	15	18
25. 6./II	23,0 ± 1,26	13,8 ± 0,87	17,0 ± 0,46	10,1 ± 0,68	20	18
28. 6./III	17,7 ± 0,40	14,6 ± 0,41	16,5 ± 0,38	9,0 ± 0,57	25	18,2
30. 6./IV	11,5 ± 0,58	20,4 ± 0,65	—	—	30	18,2
1. 7./V	9,2 ± 0,26	16,9 ± 0,43	—	19,4 ± 1,26	35	18,2
2. 7./VI	9,9 ± 0,33	14,2 ± 0,40	—	20,0 ± 0,85	35	18,1
9. 7./VII	11,7 ± 0,47	11,2 ± 0,70	—	16,6 ± 0,64	40	18
10. 7./VIII	14,0 ± 0,34	14,1 ± 0,26	—	17,8 ± 0,40	50	17,8
13. 7./IX	8,2 ± 0,36	16,7 ± 0,44	18,9 ± 0,51	16,7 ± 0,44	50	17,2
14. 7./X	3,8 ± 0,40	12,3 ± 0,52	—	14,3 ± 0,60	55	17,6
23. 7./XI	1,7 ± 0,64	12,2 ± 0,39	12,3 ± 0,41	9,5 ± 0,44	55	17,6
25. 7./XII	0	10,1 ± 0,20	9,0 ± 0,37	9,5 ± 0,30	60	17,6
28. 7./XIII	0	8,5 ± 0,60	—	10,3 ± 0,41	70 helix 60 normal	18
30. 7./XIV	0	7,3 ± 0,42	—	8,1 ± 0,46	65	18
26. 8./XV	—	0	—	10,0 ± 0,31	100	18

Die jeweils mitgetesteten Heteroauxinkonzentrationen sind im Text Seite 283 erläutert.

Veloblandina helix steht anfangs in der Wuchsstoffabgabe zwischen *Z-amphivelutina helix* und *Z-amphivelutina* normal. Am 13. Juli, im Test IX, gibt sie am meisten Wuchsstoff ab und fällt dann zusammen mit der normalen *Z-amphivelutina* ab.

Die jeweils mitgetestete Heteroauxinkonzentration wurde so gewählt, daß sie ungefähr vergleichbare Krümmungswerte ergab; sie betrug in Test I 10^{-4} mol/l, in Test II und III 10^{-7} mol; in den Testen V—X wurde eine 10^{-5} und von Test XI—XV eine 10^{-7} molare Lösung mitgetestet. Die Luftfeuchtigkeit in der Testkammer betrug stets 82%, in Test VI 81%.

b) Wuchsstoffabgabe der Seitentrieb-Gipfelknospen. Neben den zahlreichen stark gehemmten Seitentrieben der Mutante kommen auch wenige vor, die sich bis zur Blüte entwickeln. Es war zu prüfen, wie sich nun die Wuchsstoffabgabe solcher gehemmter im Gegensatz zu den ungehemmten verhält und wie sich die blühfähigen Achseltriebe der Helixpflanze von denen der Normalpflanze unterscheiden.

Von den gehemmten Seitentrieben, die nur ein einziges 8—10 cm langes Blatt bildeten, wurde ein 1 cm langes Blattstielstück, von den Becherchen ein 1 cm langes Stengelstück getestet. Bei den gesunden Achseltrieben wurde der Wuchsstoff aus der Gipfelknospe aufgefangen. In Tabelle 6 sind die Werte dieser Teste wiedergegeben.

Tabelle 6.

Tag des Testes	Z-amphivelutina helix, gehemmte Seitentriebe	Z-amphivelutina helix, gesunde Seitentriebe	Z-amphivelutina normal	Veloblandina helix, gehemmte Seitentriebe	IES[1]
6. 7.	9,7 ± 0,53	—	5,6 ± 0,24	9,67 ± 0,52	18,7 ± 0,68
7. 7.	11,2 ± 0,28	—	6,9 ± 0,20	—	19,1 ± 0,42
9. 7.	9,1 ± 0,14	—	5,0 ± 0,31	—	16,6 ± 0,64
10. 7.	11,8 ± 0,33	—	5,4 ± 0,20	—	17,8 ± 0,40
12. 7.	9,2 ± 0,34	12,5 ± 0,31	10,2 ± 0,38	—	11,8 ± 0,34
14. 7.	—	—	13,0 ± 0,26	—	14,3 ± 0,60
19. 7.	—	14,6 ± 0,36	—	—	14,3 ± 0,40
23. 7.	0	—	4,1 ± 0,14	—	9,5 ± 0,44
31. 7.	—	8,0 ± 0,27	—	—	9,3 ± 0,36
10. 8.	—	8,6 ± 0,36	0	—	9,1 ± 0,26
11. 8.	—	6,7 ± 0,17	0	—	8,9 ± 0,27

[1] Die Heteroauxinkonzentrationen betrugen vom 6. 7. — 19. 7. 10^{-5} mol/l, danach 10^{-7} mol/l.

Die gehemmten Seitentriebe der *helix* haben schon sehr früh einen hohen Wuchsstoffspiegel, der indes rasch zum Erliegen kommt; sind die Triebe ausgewachsen, so vertrocknen sie bald.

Die gesunden *helix*-Seitentriebe gehen in ihrer Wuchsstoffabgabe am höchsten und wachsen lange Zeit fort; zu einer Zeit, wenn sogar die normalen Pflanzen aus ihren Seitentrieben keinen Wuchsstoff mehr abgeben, läßt sich solcher noch aus den *helix*-Seitentrieben abfangen; hier liegen die Verhältnisse also umgekehrt wie bei den Haupttrieben. *Veloblandina helix* versprach hier keine weiteren Erkenntnisse und wurde aus den Testen herausgelassen.

Während die normalen Seitentriebe ihre Haupttriebe kaum in der Wuchsstoffabgabe zu übertreffen vermögen, kommt das bei Helixtrieben sehr wohl vor, was durch das frühe Absterben des Hauptvegetationspunktes erklärt wird.

Später als die normalen erreichen die *helix*-Verzweigungen ihr Maximum, was wir als Nachwirkung der hohen Wuchsstoffkonzentration in der *helix*-Pflanze

und aus der damit verbundenen Unterdrückung der Seitentriebe verstehen. Erst nach dem Absinken des Wuchsstoffspiegels in den Haupttrieben können sich die Nebentriebe, und hier auch nur die wenigen, die nicht von Anfang an schwer gehemmt sind, entwickeln.

c) Wuchsstoffabgabe der Blätter. Die stark eingerollten Laubblätter der *Z-amphivelutina helix* wurden an ihrer Basis vom Stengel geschnitten; wir testeten zuerst ganze Blätter, erzielten dabei aber stärkere Streuungen und verwendeten dann ein 1 cm langes Stück des Blattstieles (vgl. SÖDING, S. 20); zum Vergleich wurden entsprechende Stücke der normalen Blätter mitgeprüft. In Tabelle 7 sind die in jeweils 3 Testen ermittelten Werte zusammengefaßt.

Tabelle 7.

Tag des Testes	Z-amphivelutina helix	Z-amphivelutina normal	Veloblandina helix	IES 10^{-5}, 10^{-5}, 10^{-7} mol
3. 7.	13,4 ± 0,50	8,7 ± 0,55	—	16,1 ± 1,17
5. 7.	8,3 ± 0,33	5,4 ± 0,37	6,7 ± 0,55	18,0 ± 0,52
26. 7.	0	0	—	8,2 ± 0,37

Temperatur 18,2° C; Luftfeuchtigkeit 82%; Anzahl der getesteten Blätter je Spalte: $n = 12$. Statistische Sicherung des Testes vom 5. 7. nach dem t-Test: *Z-amphivelutina* normal gegen *Z-amphivelutina helix:* $D = 2{,}9$; $\sigma_D = 0{,}14$; $3{,}4\ \sigma_D = 0{,}47$; $D > 3{,}4\ \sigma_D$. *Z-amphivelutina helix* gegen *Veloblandina helix:* $D = 1{,}3$; $\sigma_D = 0{,}2$; $3{,}5\ \sigma_D = 0{,}70$; $D > 3{,}5\ \sigma_D$.

Z-amphivelutina helix gibt aus den Blättern mehr Wuchsstoff ab als *Z-amphivelutina* normal. Zwischen beiden liegt *veloblandina helix,* und das gilt für diese Pflanze ja auch in bezug auf die Deformation ihrer Blätter.

Da aus den *helix*-Blättern mehr Wuchsstoff in den Agar diffundiert als aus den normalen, so wird in jenen auch mehr enthalten sein. Also ist die Blattkrümmung und Blatteinrollung auf eine Überproduktion von Wuchsstoff in den Blättern zurückzuführen, und daß derselbe in den Blättern selbst gebildet wird, demonstriert ein Versuch, bei dem den Blättern der Nerv durchschnitten wurde. Sie krümmten sich ebenfalls, ja sogar noch stärker als die nichtdurchschnittenen Kontrollen, wohl weil die Wuchsstoffableitung gestört war. Wir können deshalb annehmen, daß auch das Blattnervengewebe der Oenotheren einen nicht unbeachtlichen Anteil an der Wuchsstoffleitung nimmt (vgl. dazu SÖDING 1952, S. 61).

d) Wuchsstoffabgabe der Brakteen. Die Brakteen der *helix*-Hybride sind nicht gekrümmt und weisen keinen Unterschied gegenüber denen der Normalform auf. Trotzdem wurden Teste angesetzt, um zu prüfen ob auch kein Unterschied in der Quantität der Wuchsstoffe besteht. Die Brakteen wurden dabei ebenso wie die Laubblätter an ihrer Basis getestet. In Tabelle 8 sind die Werte dreier Teste zusammengefaßt, die von 3 cm langen Brakteen stammen.

Tabelle 8.

Tag des Testes	Z-amphivelutina helix	Z-amphivelutina normal	IES 10^{-7} mol
3. 8.	4,6 ± 0,17	4,61 ± 0,22	9,5 ± 0,30
4. 8.	4,9 ± 0,20	5,0 ± 0,24	9,6 ± 0,30
5. 8.	3,5 ± 0,24	3,6 ± 0,24	9,4 ± 0,31

Temperatur 18° C; Luftfeuchtigkeit 82%; $n = 10$.

Unterschiede in der Wuchsstoffquantität ergaben sich nicht, und so ist auch das Verhalten der *helix*-Brakteen zu verstehen, die sich nicht wie ihre Laubblätter

einrollen. Die ersten an *helix*-Pflanzen entstandenen Brakteen hingegen sind stets dicker als die normalen, und in ihren Achseln befinden sich kaum gesunde Blüten. Diese werden ja schon unter dem Einfluß der anfänglich sehr hohen Wuchsstoffkonzentration angelegt und zur Deformation gezwungen, während spätere Brakteen und Blüten nicht mehr in der Weise in ihrer Entwicklung behindert werden.

e) Wuchsstoffabgabe der Blütenknospen und Früchte. Die Untersuchung wurde an 2 cm großen Blütenknospen begonnen, wobei von der Mutante nur gesunde, vollständig entwickelte Knospen verwendet wurden. Sie wurden an der Basis der Fruchtknoten vom Stengel getrennt und auf die Schnittfläche der Knospe ein Agarblöckchen gelegt.

Wenn auch Renner (S. 37ff.) vermutete, daß „die Blütenbildung unter der Disharmonie der Wuchsstoffe weniger leidet", so versprachen wir uns von den Testen doch eine Klärung der Frage, ob der Wuchsstoff an der Mißbildung so zahlreicher Blüten beteiligt ist.

Die Ergebnisse, in Tabelle 9 zusammengefaßt, bestätigen die vorhergegangenen Untersuchungen.

Tabelle 9.

Tag des Testes	Größe der Blütenknospen cm	Z-amphivelutina helix	Z-amphivelutina normal	Veloblandina helix	IES 10^{-7} mol
16. 7.	2,0	10,2 ± 0,33	4,7 ± 0,49	6,4 ± 0,22	7,0 ± 0,26
17. 7.	2,5	7,7 ± 0,65	4,6 ± 0,31	5,1 ± 0,34	15,2 ± 0,54
19. 7.	3,0	6,7 ± 0,36	5,0 ± 0,17	4,9 ± 0,30	14,3 ± 0,40
22. 7.	3,5	4,2 ± 0,30	4,1 ± 0,40	4,1 ± 0,30	8,2 ± 0,47
24. 7.	7,0	0,0	0,0	0,0	8,9 ± 0,47

Temperatur 17,6° C; Luftfeuchtigkeit 82%; $n = 10$.

2 cm große Blüten von *Z-amphivelutina helix* geben an Agarblöckchen eine Wuchsstoffmenge ab, die eine Krümmung von 10,2° bewirkt, während die entsprechenden von der normalen Pflanze nur eine Krümmung von 4,7° verursachen; wiederum liegt *veloblandina helix* dazwischen mit 6,4°.

Mit der Größenzunahme der Blüten sinkt der Wuchsstoffgehalt ab (vgl Söding 1952, S. 36), bei der *Z-amphivelutina helix* relativ schneller als bei der beiden anderen getesteten Verbindungen, bis sich bei einer Größe von 7 cm kein Wuchsstoff mehr abfangen läßt, und zu diesem Zeitpunkt stehen die Blüten etwa 12 Std vor der Öffnung. Sie erreichen, wenn sie auch vorher in der Wuchsstoffabgabe differierten, zur gleichen Zeit den Nullpunkt und unterscheiden sich hierin von den Haupt- und Seitentrieben, bei denen die *helix*-Verbindung einen von der Normalform verschiedenen Wuchsstoffhaushalt aufweist.

Nach der Befruchtung steigt die Wuchsstoffabgabe der Früchte sehr rasch wieder an, wie folgende Tabelle 10 zeigt.

Die in Agar diffundierte Menge an Wuchsstoff ist bei den normalen größer als bei den *helix*-Früchten. Dieses Ergebnis erscheint zunächst verwunderlich, da wir gewohnt sind, bei stark wachsenden Organen die *helix*-Form vorn zu sehen; auch nehmen die *helix*-Früchte schneller an Größe zu (s. Tabelle 10) als die normalen, so daß ein umgekehrtes Wuchsstoffverhältnis zu erwarten gewesen wäre.

Tabelle 10.

Tag des Testes	Größe in cm		Tage nach Bestäubung	Z-amphivelutina helix	Z-amphivelutina normal	IES 10^{-7} mol
	helix	normal				
25. 8.	1,6	1,3	3	3,3 ± 0,10	4,6 ± 0,31	9,1 ± 0,26
9. 8.	2,0	1,5	6	6,5 ± 0,33	9,9 ± 0,48	9,4 ± 0,22
10. 8.	2,2	1,6	7	9,4 ± 0,26	13,9 ± 0,17	9,1 ± 0,26
14. 8.	3,0	2,0	10	7,1 ± 0,33	9,7 ± 0,28	9,3 ± 0,22
18. 8.	3,3	2,5	14	5,8 ± 0,20	7,6 ± 0,33	9,0 ± 0,28
25. 8.	3,5	3,0	23	4,4 ± 0,26	3,3 ± 0,17	9,1 ± 0,26
26. 8.	3,5	3,5	37	2,2 ± 0,14	0,0	10 ± 0,31

Temperatur 18° C; Luftfeuchtigkeit 82%; $n = 12$.

Bei der Auszählung der befruchteten Samenanlagen in den normalen und *helix*-Fruchtknoten ergab sich jedoch, daß die *helix*-Form weit weniger Samen besaß als die normale; der Mindergehalt beträgt etwa 50%. Daneben fanden sich in den *helix*-Früchten viele unentwickelte Samen, und nach Beendigung der Reife trockneten die Früchte der Mutante sehr stark ein, wobei sie, was die Dicke betrifft, teilweise bis auf die Hälfte der Normalfrüchte zusammenschrumpften.

Nach Erreichung des Maximums sinken die normalen Früchte in ihrer Wuchsstoffabgabe relativ rascher ab als die *helix*-Früchte, ja vom 20. Tag nach der Bestäubung sogar unter sie, und während sich am 37. Tag nach der Bestäubung kein Wuchsstoff mehr aus den normalen abfangen läßt, geben die *helix*-Früchte noch immer geringe Mengen ab.

Diese langanhaltende Wuchsstoffproduktion in den Samenanlagen der *helix*-Früchte könnte auf die Ausdifferenzierung des Embryos teilweise hemmend wirken und die mannigfaltigen Verwachsungen der Kotyledonen, sowie das damit verbundene Absterben des Vegetationspunktes (s. S. 268) verursachen.

f) Wuchsstoffabgabe der Stengelblätter im Freiland und im Gewächshaus. Das unterschiedliche Verhalten der *helix*-Mutante im Freiland und im Gewächshaus ließ vermuten, daß auch der Wuchsstoffhaushalt im schwächeren Licht ein anderer war. Untersucht wurde diese Frage an gleich alten gekrümmten Stengelblättern bei *Z-amphivelutina helix*.

Als eine Zwischenstufe wurden Pflanzen in Schattenkästen gezogen, die mit grobem Rupfen bespannt waren und in die das Licht nur abgeschwächt hineinfiel. Wie aus Tabelle 11 hervorgeht, stehen die Blätter der Schattenkästenpflanzen

Tabelle 11.

Tag des Testes	Z-amphivelutina helix Gewächshaus	Z-amphivelutina helix Schattenkasten	Z-amphivelutina helix Freiland	IES 10^{-7}
31. 7.	10,3 ± 0,34	6,9 ± 0,31	4,8 ± 0,22	9,3 ± 0,36
2. 8.	8,1 ± 0,24	6,1 ± 0,24	4,3 ± 0,20	9,5 ± 0,39
4. 8.	9,6 ± 0,36	5,7 ± 0,39	—	9,6 ± 0,30
5. 8.	—	—	3,6 ± 0,26	9,4 ± 0,31

Temperatur 18° C; Luftfeuchtigkeit 82%; $n = 10$. Statistische Sicherung des Testes vom 2. 8.: *Z-amphivelutina helix* Gewächshaus gegen *Z-amphivelutina helix* Schattenkasten: $D = 2{,}0$; $\sigma_D = 0{,}2$; $3{,}5\,\sigma_D = 0{,}70$; $D > 3{,}5\,\sigma_D$. *Z-amphivelutina helix* Schattenkasten gegen *Z-amphivelutina helix* Freiland: $D = 1{,}8$; $\sigma_D = 0{,}2$; $3{,}5\,\sigma_D = 0{,}70$; $D > 3{,}5\,\sigma_D$.

in ihrer Wuchsstoffabgabe zwischen den Pflanzen des Gewächshauses und denen des Freilandes.

An Hand dieser Ergebnisse kommen wir zu dem Schluß, den auch LAIBACH u. KRIBBEN (1953) sowie KRIBBEN (1953, S. 107) vertreten, daß die Wuchsstoffproduktion der Blätter im vollen Licht höher ist als im diffusen Licht des Gewächshauses, daß aber die Wuchsstoffableitung aus den Blättern mit zunehmender Lichtintensität sinkt. So wäre auch das Verhalten der *helix*-Mutante zu verstehen, die im Gewächshaus demnach weniger Wuchsstoff produziert und mehr ableitet, im Freiland aber mehr produziert und weniger ableitet, so daß mehr Wuchsstoff für den Verbrauch am Entstehungsort zur Verfügung steht.

Ferner dürfen wir aus dem Verhalten dieser Wuchsstoffmutante in den verschiedenen Lichtintensitäten schließen, daß die Zahl der Verzweigungen und Blüten abhängig ist von der Wuchsstoffproduktion, viel mehr aber noch von der Wuchsstoffableitung der Pflanze; denn obwohl die *Z-amphivelutina helix* im Gewächshaus weniger Wuchsstoff erzeugt als im Freiland, werden bei ihr doch die Achseltriebe stärker gehemmt, weil die Ableitung größer ist als bei den gleichen Pflanzen des Freilandes.

Abb. 15. *Z-amphivelutina helix* im Gewächshaus geschoßt. Rechte Pflanze mit Heteroauxin besprüht, linke unbehandelt.

Eine Bestätigung dieser Untersuchungen brachte die Besprühung von *helix*-Pflanzen, die im Gewächshaus geschoßt waren und nur eine sehr schwache Blattepinastie zeigten, mit Heteroauxin. Am 2. Juli 1954 wurden 5 Pflanzen mit einer 10^{-5} molaren Lösung behandelt. Schon einen Tag später hatten sich die besprühten Laubblätter stark gesenkt (Abb. 15, rechts im Bild die besprühte Versuchspflanze, links die unbesprühte Kontrolle). Nach Beendigung der Besprühung verwuchs die Epinastie sehr langsam wieder und nach 5 Tagen hatten die Blätter die Gestalt der unbehandelten Kontrollen zurückgewonnen. — Eine Abwärtskrümmung der Blätter bei *Coleus* (rot) nach Bestreichen mit Heteroauxin erzielten LAIBACH u. FISCHNICH (1936); allerdings ging diese nach einiger Zeit in eine Einwärtskrümmung über.

g) Wuchsstoffabgabe einer Pflanze von der Spitze zur Basis. Zur Klärung der Wuchsstoffverteilung im Hauptsproß wurden die Pflanzen in Zentimeterabständen vom Vegetationspunkt abgeschnitten und ihre Schnittflächen je nach Größe mit 2, 4 oder 6 unserer Agarblöckchen belegt.

Zunächst testeten wir jüngere, 35—40 cm hohe Pflanzen, um sie dann mit älteren, 60—70 cm hohen Pflanzen vergleichen zu können, bei denen der Vegetationspunkt bereits abgestorben war. In Tabelle 12 sind die Versuche mit jüngeren Pflanzen wiedergegeben.

Wie aus der Tabelle 12 hervorgeht, steigt die Wuchsstoffabgabe im Hauptsproß bei den jüngeren *helix*-Pflanzen nach unten an, während sie bei den Normalpflanzen absinkt. So erklärt sich wohl, warum die Verzweigungen so stark gehemmt sind und in den unteren Bereichen der *helix*-Pflanzen fast stets fehlen. Bei einer Größe von 40 cm liegt die Gipfelknospe der Mutante bereits in der Wuchsstoffabgabe unter der normalen, und auf diesem Stadium ist der Vegetationspunkt auch erschöpft. Zu diesem Zeitpunkt sind Brakteen und gehemmte Blüten bei der Helixform schon ausgebildet.

Tabelle 12.

		Tag des Testes	
		20. 7.	21. 7.
Z-amphivelutina helix	0	8,8 ± 0,20	7,5 ± 0,44
Abstände in cm	10	7,4 ± 0,31	7,9 ± 0,17
vom Vegetationspunkt	15	7,2 ± 0,47	9,1 ± 0,24
des Hauptsprosses	20	12,4 ± 0,82	20,1 ± 0,55
Z-amphivelutina normal	0	5,5 ± 0,44	8,1 ± 0,61
Abstände in cm	10	5,2 ± 0,20	8,6 ± 0,42
vom Vegetationspunkt	15	8,0 ± 0,34	4,0 ± 0,14
des Hauptsprosses	20	3,1 ± 0,24	4,5 ± 0,26
β-IES 10^{-7}		6,9 ± 0,36	9,3 ± 0,48

Temperatur 17,6° C; Luftfeuchtigkeit 82%; Größe der Pflanzen vom 20. 7. = 35 cm, vom 21. 7. = 40 cm.

Ein anderes Bild erhält man bei der Betrachtung älterer Pflanzen (Tabelle 13), bei denen der Vegetationspunkt der *helix*-Form keinen Wuchsstoff mehr abgibt.

Tabelle 13.

		Tag des Testes					
		28. 7.		29. 7.		30. 7.	
Z-amphivelutina helix	0	0,0		0,0		0,0	
Abstände in cm	5	8,5 ± 0,34		6,0 ± 0,20		5,2 ± 0,28	
vom Vegetationspunkt	10	9,4 ± 0,34		9,2 ± 0,31		7,8 ± 0,28	
des Hauptsprosses	20	12,0 ± 0,89		15,2 ± 0,41		10,1 ± 0,33	
	30	4,9 ± 0,24		15,6 ± 0,33		4,9 ± 0,51	
Z-amphivelutina normal	0	8,5 ± 0,60		11,5 ± 0,44		7,3 ± 0,42	
Abstände in cm	5	19,9 ± 0,22		11,7 ± 0,51		10,0 ± 0,44	
vom Vegetationspunkt	10	21,0 ± 0,75		12,6 ± 0,46		13,1 ± 0,28	
des Hauptsprosses	20	18,4 ± 1,60		15,2 ± 1,16		17,1 ± 0,33	
	30	7,3 ± 0,50		16,9 ± 0,58		9,8 ± 0,28	
IES, 10^{-7} molar		10,3 ± 0,41		7,8 ± 0,42		8,1 ± 0,46	
Größe der Pflanzen in cm		helix 65	normal 60	helix 70	normal 75	helix 65	normal 65

Temperatur 18° C; Luftfeuchtigkeit 82%.

Bei normal und *helix* sinkt die Wuchsstoffabgabe 30 cm vom Vegetationspunkt wieder ab. (Eine Ausnahme macht der Test vom 29. Juli, wo die Größe der Pflanzen nicht mit denen der beiden anderen übereinstimmt; in diesem Test würde der Abstand, 30 cm, dem Abstand 20 cm der Teste vom 28. und 30. Juli entsprechen, und bei dieser Entfernung vom Vegetationspunkt stehen ja auch die niedrigeren Pflanzen noch bei ihrem Wuchsstoffmaximum.) Der Wachstumsstillstand des Vegetationspunktes der Mutante macht sich bis nach unten in der Pflanze bemerkbar; bei allen *helix*-Pflanzen liegt die Wuchsstoffabgabe

jetzt niedriger als bei der normalen. Beachtenswert ist jedoch der steile Anstieg in den ersten 10 cm Entfernung vom Vegetationspunkt, und die Abgabe von Wuchsstoff zu diesem Zeitpunkt dürfte wohl hauptsächlich durch Blüten und Früchte hervorgerufen werden, wobei die *helix*-Form wiederum unter der normalen bleibt, da sie weniger Früchte ausbilden kann als diese.

Wie zerstörend die Wirkung des zu hohen Wuchsstoffspiegels der ersten Schossungstage in der *helix*-Pflanze gewesen sein muß, erhellt daraus, daß auch jetzt, wo der Wuchsstoffgehalt der Pflanze sogar unter den Gehalt der Normalpflanze gesunken ist, keine oder nur wenig Seitentriebe ausgebildet werden.

Wuchsstoff und Spaltöffnungen. Umrath (1948 und 1952) bringt die Anzahl der Spaltöffnungen auf der Blattunterseite von *Tradescantia fluminensis* mit dem Wuchsstoffgehalt des Blattes in Verbindung, und Diannelidis u. Umrath (1952) finden, daß die Wuchsstoffwirksamkeit durch Ascorbinsäure gesteigert wird, was sich ebenfalls in einer höheren Spaltöffnungszahl bemerkbar macht. Müller u. Grimm (1953) konnten diese Befunde in umfangreicheren Versuchen, die teilweise am gleichen Material ausgeführt wurden wie von Umrath (1948), nicht bestätigen.

Tabelle 14.

helix Freiland	helix Gewächshaus	Normal Freiland	Normal Gewächshaus
576 ± 20	412 ± 20	535 ± 20	432 ± 20

Anzahl der Spaltöffnungen je Quadratmillimeter. Mittel aus je 10 Zählungen. Differenz: 576—412 = 164; 535—432 = 103.

Auch wir konnten zwischen unserer Mutante und der Normalform keinen Unterschied in der Zahl der Stomata feststellen, obwohl der Wuchsstoffgehalt der *helix*-Blätter höher ist (vgl. Tabelle 7). Dagegen fanden wir eine Differenz zwischen Pflanzen beider Formen im Freiland und im Gewächshaus (Tabelle 14).

Kolda (1937, S. 349) fand, daß die Anzahl der Stomata vergeilter Blätter von *Vicia faba* bei täglicher Beleuchtung von nur 4 min schnell zunahm. Dies erklärt Umrath (1948, S. 266) mit einer Zunahme an Wuchsstoff. M. Kropfitsch (1951) betrachtet das Verhältnis der Zahl der Stomata zu der der Epidermiszellen bei Sämlingen von *Vicia faba* und stellt fest, daß durch höhere Wuchsstoffgaben die Stomata relativ gefördert werden, durch sehr hohe aber die Epidermiszellen; damit bestätigt sie die Befunde Umraths.

h) Wuchsstoffabgabe der 15-chromosomigen Mutante dependens. Die von Renner (S. 37) ausgesprochene Vermutung, daß die 15-chromosomige Mutante *dependens* mit ihrer Faltung und Abwärtskrümmung der Laubblätter eine ähnliche Störung des Wuchsstoffsystems wie die *helix*-Mutante aufweisen könnte, wurde von uns bestätigt.

Untersucht wurde *Oe. (silesiaca × albilaeta) subpictilaeta* tris. *dependens*, welche im Jahre 1954 in großer Anzahl in einer F_2-Familie der Kulturen Prof. Renners auftrat[1]. Die Gipfelknospen und auch die Früchte wiesen keine Unterschiede in der Wuchsstoffabgabe gegenüber der Normalform auf, dagegen gaben die Blätter der 15-chromosomigen Pflanze mehr Wuchsstoff ab als die normalen (Tabelle 15).

Tabelle 15.

Tag des Testes	Dependensform	Normalform	IES 10^{-7}	Statistische Sicherung (t-Test)
12. 8.; $n = 11$	7,7 ± 0,38	5,5 ± 0,85	8,5 ± 0,24	3,4 $\sigma_D < D$
14. 8.; $n = 11$	6,7 ± 0,34	5,5 ± 0,22	9,3 ± 0,22	3,4 $\sigma_D < D$
15. 8.; $n = 15$	6,3 ± 0,14	5,0 ± 0,20	10,0 ± 0,22	3,3 $\sigma_D < D$

Temperatur 18° C; Luftfeuchtigkeit 82%.

[1] Sicherlich war eine nicht als Mutante erkannte Pflanze der F_1 gebeutelt worden.

Daß die Harmonie des Wachstums durch das überzählige Chromosom, wie bei allen trisomen Oenotheren, gestört wird, zeigt die geringere Wüchsigkeit der Mutante, und eine elementare Funktion, an der die Störung angreift, ist wohl in der Wuchsstoffproduktion gegeben.

4. Versuche mit synthetischen Wirkstoffen. An gesunden Pflanzen sind künstlich erzeugte Verwachsungen der mannigfaltigsten Art bekannt. LAIBACH u. MAI (1936) erzielten durch wiederholtes Auftragen von Heteroauxinpaste auf die Achselknospe von *Solanum lycopersicum* und *Coleus thyrsoideus* Verwachsungen von mehreren Blättern, worunter auch Blattbecher waren. SNOW u. SNOW (1937) berichten über gleiche Ergebnisse bei *Lupinus albus* und *Epilobium hirsutum* nach Applikation von Heteroauxinpaste auf die jüngsten Blattprimordien.

Abb. 16. Längsschnitt durch eine Keimpflanze von *Oenothera suaveolens* nach Behandlung mit einer 10^{-5} molaren 2,4-D-Lösung. Vergr. 14 ×.

Mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure (TJBS) erreichten VON DENFFER (1950) und WENCK (1952) ebenfalls Blattverwachsungen, wobei v. DENFFER findet, daß die im Blattgrund gelegene Streckungszone gefördert wird, während das Oberblatt einer Hemmung unterliegt. WENCK gibt ferner auch Blattstielverwachsungen an und erzielte durch höhere TJBS-Gaben eine Reduktion der Gesamtblattgröße.

Schließlich sei noch auf die Verwendung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure hingewiesen, mit der WENCK bei höheren Konzentrationen eine völlige Unterdrückung der Blattbildung erzielte, während RÜDIGER (1953) mit dem Na-Salz der Säure Blattverbänderungen und ein verstärktes Austreiben der Achselsprosse erreichte. Weitere umfangreiche Literaturhinweise über diesbezügliche Arbeiten, vor allem über die zahlreichen amerikanischen, sind von diesem Autor zusammengetragen.

Auch von uns wurden in dieser Richtung Versuche angesetzt, die zu ähnlichen Ergebnissen führten. Abb. 16 zeigt eine vom Keimblattstadium an täglich mit 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure besprühte *Oe. suaveolens* im Schnitt. Das erste und das zweite Laubblatt sind zu einem schalenähnlichen Gebilde verwachsen und haben den Vegetationspunkt eingeschlossen. Wurde die Behandlung auf diesem Stadium beendet, durchbrach der Vegetationspunkt die Verwachsung und bildete wieder normale Blätter; bei Fortsetzung der Besprühung starben die Pflanzen schnell ab.

Um die Wirkung synthetischer Wuchsstoffe auf Oenotherenkeimpflanzen eingehender zu prüfen und vielleicht weitere Analogien zu den bei den *helix*-Mutanten auftretenden Hemmungserscheinungen zu erhalten, wurden je 15 Keimlinge der *Oe. suaveolens*, vom 5. Tage nach dem Keimen an, täglich 2 Std vor dem Gießen mit der zu prüfenden Substanz besprüht. An Wirkstoffen wurden folgende Verbindungen in den angegebenen Konzentrationen (Mol/l) verwendet: 1. β-Indolylessigsäure: 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}. 2. α-Naphthylessigsäure: 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 5×10^{-6}. 3. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure: 10^{-4}, 5×10^{-5}, 10^{-5}, 10^{-6}. 4. Cumarin: 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}.

Dazu kamen 2 Schalen, in denen die Keimlinge mit Aqua dest. bzw. mit 10^{-3} molarer Essigsäure ($p_H = 4{,}5$) besprüht wurden.

Cumarin wurde geprüft, weil MOEWUS (1949, S. 416) für diesen Stoff eine wachstumshemmende Wirkung angegeben hat.

Bei der Beurteilung der Versuche, die am 29. Sept. 1953 begonnen und am 10. Nov. 1953 beendet wurden, setzten wir ganze Zahlen für jedes Laubblatt, das eine Größe von 0,5 cm erreicht hatte, ein; für Blätter, die sich noch nicht

so weit entwickelt hatten, wählten wir halbe Zahlen. Bei der Wasserkontrolle geht die Zunahme des Wachstums von 0—8 (vom Keimblattstadium bis zur Entwicklung des 8. Laubblattes): sie zeigt einen geradlinigen Anstieg und dient als Vergleichslinie für Hemmung oder Förderung durch die synthetischen Wirkstoffe. Die Zuwachskurve der Essigsäurekontrolle ist identisch mit der der Wasserkontrolle.

a) Besprühung mit β-Indolylessigsäure. α) 10^{-3} Mol/l. Diese Konzentration wirkt stark hemmend auf das Wachstum; sie setzt es sofort still, und erst nach einer Zeit der Gewöhnung vermag die Pflanze sich schwach zu entwickeln. Nach Beendigung der Besprühung bleiben die betroffenen Pflanzen gegenüber der Wasserkontrolle gleichmäßig zurück. Unter dem Einfluß der hohen Konzentration werden zahlreiche Adventivwurzeln am Hypokotyl ausgebildet, und die Laubblätter nehmen rundliche Gestalt an.

β) 10^{-4} Mol/l. Das Wachstum verläuft zunächst wie das der Wasserkontrolle, fällt jedoch mit Besprühungsende ab und läuft dann mit allmählich größer werdendem Unterschied unterhalb der Kontrolle einher.

γ) 10^{-5} Mol/l. Während der Besprühungszeit sind die Pflanzen gegenüber der Wasserkontrolle schwach gefördert, verlieren diesen Vorsprung aber nach Beendigung der Wuchsstoffbehandlung und unterscheiden sich dann nicht mehr von den Kontrollpflanzen.

δ) 10^{-6} Mol/l. Die Pflanzen dieser Gruppe erfahren eine gleichmäßig intensive Förderung gegenüber der Wasserkontrolle, die auch nach Beendigung der Applikation nicht nachläßt.

ε) 10^{-7} Mol/l. Gleich nach dem Einsetzen der Besprühung erhebt sich das Wachstum über das der Kontrolle und nimmt nach Beendigung der Besprühung noch an Intensität zu. Diese Konzentration wirkt am stärksten fördernd von allen verwendeten Heteroauxinlösungen.

b) Besprühung mit α-Naphthylessigsäure. α) 10^{-3} Mol/l. Ganz analog der entsprechenden Heteroauxinkonzentration verhält sich die α-Naphthylessigsäure. Auch bei ihr treten gedrungene, abgerundete Blätter auf, eine deutliche Hemmungserscheinung.

β) 10^{-4} Mol/l. Diese Konzentration wirkt stärker hemmend als die gleiche des Heteroauxins, und auch nach Aufhören der Wuchsstoffgabe bleiben die Pflanzen unter der Wasserkontrolle. Die Keimblätter nehmen succulente Form an und sind stark gewellt.

γ) 10^{-5} Mol/l. Nach Beendigung der Besprühung sinkt das Wachstum unter das der Kontrollpflanzen ab, nähert sich ihnen jedoch langsam wieder.

δ) 10^{-6} Mol/l. Anfangs ist das Wachstum dieser Pflanzen gleich dem der Kontrolle, erhebt sich aber nach dem Ende der Besprühung immer mehr über sie.

c) Besprühung mit 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure. Konzentrationen bis zu 10^{-4} Mol/l erwiesen sich bei den Versuchspflanzen als letal, und auch 5×10^{-5} und 10^{-5} ergaben noch eine äußerst starke Hemmwirkung, die selbst nach der Beendigung der Wuchsstoffgabe nur sehr langsam nachließ. Ferner traten bei diesen hohen Konzentrationen zahlreiche Blattverwachsungen auf, die unter anderem zu Becherchen, Schalen und Stiftchen führten, wie wir sie von der *helix*-Mutante kennen.

Erst eine 10^{-6} molare Lösung erbrachte längere Zeit nach Einstellung der Besprühung eine Wachstumsförderung, die mit Blattverwachsungen einherging, wobei auch die Blattspreite gegenüber dem Blattnerv im Wachstum gefördert war.

d) Besprühung mit Cumarin. Moewus (1948, S. 110 und 1949, S. 416) und Söding (1952, S. 107 und 1954, S. 233) halten Cumarin für einen Hemmstoff, da die Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-6} g/cm³ auf das Wachstum von Kressewurzeln hemmend wirken. Für *Marchantia*-Rhizoiden allerdings geben Moewus u. Schader (1953) auch eine fördernde Wirkung des Cumarins an.

Bei unseren Versuchen mit Konzentrationen aus diesem Bereich fanden wir nur eindeutige Förderung, wobei gerade die Menge, für die Moewus eine 50%ige Wachstumshemmung angibt, die deutlichste Förderung ergab.

Es gilt also, wie Audus u. Quastel (1947) bereits feststellten, für Cumarin wie für andere Wirkstoffe, daß es je nach dem Objekt und je nach der Konzentration bald hemmend bald fördernd auftritt.

Wie auch frühere Autoren konnten wir, jedoch nur mit 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, Blattverwachsungen erzeugen, die in ihrem anatomischen Aufbau an Verwachsungen erinnern, wie sie bei der *helix*-Mutation vorkommen. Heteroauxinlösungen, selbst in hohen Konzentrationen, bewirkten keine Verwachsungen; 10^{-3} molare Lösungen verhinderten aber das Keimen.

5. Nährlösungsversuche. In verschiedenen Mangellösungen kultivierten wir die *Z-amphirelutina helix* und die Normalform, um festzustellen, ob die Mutante auf das Fehlen eines wichtigen Grundbausteines anders reagieren würde als die nichtmutierte Pflanze. Als Nährlösungen dienten uns nach den Angaben von SCHROPP (1951, S. 154) die Normal- und Mangellösungen nach v. d. CRONE-MERKENSCHLAGER.

Je 2 Sämlinge wurden in einem 1 Liter-Kulturgefäß aus Glas gezogen — 3 Gefäße gehörten zu einer Gruppe —, und die Lösung wurde täglich mit einem Glasstab umgerührt. Die Kulturen standen im Gewächshaus; Beginn der Versuche war der 29. März 1954, beendet wurden sie am 29. Juli 1954. Nach jeweils 1 Monat wurden die Lösungen erneuert.

Neben der Normallösung wurden folgende Mangellösungen verwendet: ohne Stickstoff, ohne Phosphor, ohne Schwefel, ohne Calcium.

In der Beurteilung der Versuche wurde wiederum so verfahren, daß jedes Blatt über 0,5 cm Größe mit einer ganzen Zahl gewertet wurde. Die Beobachtungen wurden in monatlichem Abstand vorgenommen.

Während der ganzen Versuchsdauer zeigten sich keine oder nur sehr geringe Unterschiede zwischen *helix*- und Normalpflanzen, und es ist daher nicht wahrscheinlich, daß Störungen im Mineralstoffwechsel der Mutante zu erwarten sind.

V. Besprechung.

Die Analyse der *helix*-Mutante hat ergeben, daß eine Störung des Wuchsstoffgleichgewichtes vorliegt. Die starken Hemmungen der Keimpflanzen, der Verzweigungen, der Blüten und der Früchte sowie die Verkrümmung der Stengelblätter gehen Hand in Hand mit einem besonders hohen Wuchsstoffniveau und sind wohl dadurch verursacht.

Viele dieser Hemmungen sind durch Anwendung synthetischer Wirkstoffe von zahlreichen Autoren an verschiedenen Pflanzen erzielt worden.

LAIBACH u. MAI (1936) deuten die Blattverwachsungen, die sie nach Heteroauxingabe erhielten, als ein Ergebnis der Überschwemmung des Vegetationspunktes mit Wuchsstoff, und dieser Deutung schließt sich RÜDIGER (1953, S. 190) an. So scheint uns bei den Hemmungen der Vegetationspunkte bei *helix*-Pflanzen das gleiche von der Pflanze selbst erreicht worden zu sein, und zwar oft so gründlich, daß es zu einem Absterben des Vegetationspunktes kommt.

GOODWIN (1937, S. 50) stellte fest, daß *Solidago rugosa* im Blatt weniger Wuchsstoff besitzt als *Solidago sempervirens*, die weniger aber größere Blätter hat, und DELISLE (1937) konnte in dem höheren und weniger verzweigten *Aster novae angliae* mehr Auxin als in dem kleineren, buschigen *Aster multiflorus* nachweisen (weitere Autoren zitiert bei SÖDING 1952, S. 53ff.).

Bei unserem Objekt genügt die Mutation eines Gens, um den Wuchsstoffhaushalt stark zu verändern, und zwar bis zur Störung der Harmonie des Stoffwechselgeschehens.

Die gekrümmten und eingerollten Stengelblätter der Mutante entstehen durch ein stärkeres Wachstum des Nervs gegenüber der Spreite. BONNER, HAAGEN-SMIT u. WENT (1939) fanden, daß sich das Wachstum des Blattmesophylls im Gegensatz zu den Blattadern unabhängig von Auxin zeigte. Dieser Feststellung schließt sich SÖDING (S. 31) nicht an, sondern hält eher für möglich, daß auch die

Spreite unter dem Wuchsstoffeinfluß wächst, der überschüssige Wuchsstoff aber im Nerv abgeleitet wird. Dieser Annahme Södings entsprechen unsere Beobachtungen. Bei der Oenotherenmutante mit ihrer überoptimalen Wuchsstoffmenge bleibt wohl die Spreite hinter dem Nerv im Wachstum zurück, aber die Schwamm- und Palisadengewebezellen sind doch gegenüber der Normalpflanze vergrößert.

Eine hemmende Wirkung des Blattes auf die Achselknospe ist seit langem bekannt. Uhrova (1934) sowie Thimann u. Skoog (1933 und 1934) bewiesen, daß es der Wuchsstoff des Blattes ist, der die Achselknospen am Austreiben hindert; Czaja (1935) schließt sich dieser Meinung an, und Le Fanu (1936) bestätigte sie wiederum durch einen eleganten Versuch, indem sie die des Blattes beraubten Stiele in Heteroauxinlösung tauchen ließ und so eine Hemmung der Achselknospen erzielte.

Nach diesen Erfahrungen ist es durchaus wahrscheinlich, daß die sich einrollenden Blätter, die ja mehr Wuchsstoff abgeben als die normalen (vgl. Tabelle 8), an der starken Hemmung der Achselknospen maßgeblich beteiligt sind.

Die Verzweigungen der *helix*-Mutante werden indes nicht ausschließlich durch die Blätter gehemmt; das geht aus Entblätterungs- und Entspreitungsversuchen hervor, die zu keinem besseren Ergebnis als die Dekapitation der Gipfelknospe führten. Auch durch Entfernung beider Wuchsstoffproduzenten (Blatt und Gipfelknospe) gelang es nicht, die Anzahl der Verzweigungen zu erhöhen.

Die extreme Hemmung der Achselknospen, die in der Bildung der kleinen tütenförmigen Blätter oder der Spitzchen zum Ausdruck kommt und die bis zum Absterben des Vegetationspunktes gehen kann, beruht vielleicht auch auf der besonders hohen Wuchsstoffkonzentration beim beginnenden Schossen.

Die wesentlich höhere Menge an Wuchsstoff in der Mutante braucht freilich nicht auf einer gesteigerten Produktion zu beruhen; sie könnte auch durch das Fehlen einer β-Indolylessigsäure-Oxydase („Erbsen-Enzym": Tang u. Bonner 1947, 1948; Galston u. Dalberg 1954; „Ananasoxydase": Gortner u. Kent 1953; in Bohnenblattstielen: Shoji u. Addicott 1954) verursacht werden; hierüber sollen weitere Versuche Aufschluß geben.

Die Propfungen führten zu keinem Einblick in das Wuchsstoffverhalten der Mutante. Zwar stellte Snow (1940) die Fernleitung einer Hormonwirkung über Pfropfstellen hinweg fest, aber diese schreibt er einem „Inhibitor" zu — Libbert (1954a und b) hat sich mit diesem Hemmstoff eingehend beschäftigt —, während bei unserer Mutante die Hemmungserscheinungen wohl durch die überoptimale Wuchsstoffkonzentration bedingt werden.

Im Gegensatz zu der gewöhnlichen Erfahrung, daß hohe Wuchsstoffkonzentrationen auf Achselknospen hemmend wirken (vgl. Söding, S. 183ff.), stehen folgende Beispiele: Beal (1938) erhielt unter dem Einfluß von Heteroauxin in den Blattachseln von *Lilium harrisii* Triebe, doch schon bei *Lilium formosanum* und *Lilium longiflorum* erreichte er unter dem Wuchsstoffeinfluß nur Adventivwurzelbildung. Rüdiger (1953) berichtet, daß er beim Lein durch 2,4-D(Na)-Behandlung eine Förderung der Achselknospen erzielen konnte.

Die Versuche von Link u. Eggers (1938) sind indes besser mit unseren Ergebnissen zu vergleichen. Sie bestrichen dekapitierte Flachskeimlinge mit Heteroauxinpaste und konnten dadurch die Ausbildung von Adventivknospen mindern oder bei Verwendung hoher Dosen sogar vollständig verhindern.

Auch für die starke Blütenhemmung, die wir bei unserer Mutante ebenfalls auf eine Wuchsstoffstörung zurückführen möchten, finden wir in der Literatur Beispiele (vgl. SÖDING, S. 275ff.), die durch Wuchsstoffapplikation künstlich erzielt wurden; allerdings fehlt es hier auch nicht an Fällen umgekehrten Verhaltens (SÖDING, S. 275ff.). Wichtig scheint uns zu sein, daß bei der *helix*-Mutante die untersten Blüten stets rudimentär oder gestört sind; denn diese werden ja schon zu einer Zeit angelegt, da die Pflanze noch ein relativ hohes Wuchsstoffniveau hat.

Die zahlreichen „blinden" Keimlinge werden wohl schon auf dem Embryonalstadium durch die langanhaltende Wuchsstoffproduktion in den Früchten verursacht. RIETSEMA, SATINA und BLAKESLEE (1953 und 1954) behandelten junge Embryonen von *Datura stramonium* mit Heteroauxin und konnten dadurch vielfach abnorme Bildungen der Kotyledonen erzielen; durch hohe Wuchsstoffgaben gelang es ihnen sogar das meristematische Gewebe vollkommen zu unterdrücken. Auch HACCIUS (1955) weist auf die Empfindlichkeit junger pflanzlicher Embryonen gegenüber Wuchsstoffen hin.

Mit unserer Erfahrung, daß in der Helix unter dem Einfluß von Wuchsstoff auf dem Blattnerv Auswüchse und in dem darunter liegenden Parenchym zahlreiche Nester von Xylem und Phloëm entstehen, stimmen Beobachtungen verschiedener Autoren überein, wonach solche Anomalien durch äußerlich gebotene Wuchsstoffe erzeugt werden. KRAUS, BROWN u. HAMNER (1936) fanden an Bohnen, daß die Zellen unter dem Einfluß von Indolessigsäure meristematisch wurden, ferner, daß Xylem, Phloëm und vielkrenige Zellen entstanden. Gleiche Ergebnisse erzielten BORTHWICK, HAMNER u. PARKER (1936) an Tomaten, während HARRISON (1938) hauptsächlich Wurzelbildung unter dem Einfluß von Heteroauxin beschreibt. APPLER (1951, S. 468) fand in Tumoren, die nach Behandlung mit *Pseudomonas tumefaciens* oder Heteroauxin entstanden, „unregelmäßig angeordnete Nester von Netztracheiden".

Die starke gestaltgebende Wirkung der verschiedenen künstlichen Wirkstoffe wird aber stets übertroffen werden in Pflanzen, bei denen von Hause aus der Wuchsstoffspiegel erhöht ist, wie es DELISLE an *Aster novae angliae* zeigen konnte und wie es noch deutlicher die *helix*-Mutante zeigt. In dieser Pflanze ist die Neukombination der Wirkstoffe so eingespielt, daß sie trotz aller Hemmungserscheinungen zu einer reproduktiven Phase gelangt, von Einzelfällen freilich abgesehen. Wieweit ähnliches auch für Holzgewächse gilt, müßte geprüft werden: CZAJA (1934) gibt zwar für *Aesculus hippocastanum* im Vergleich mit anderen Bäumen einen besonders hohen Wuchsstoffgehalt an, erwähnt jedoch nicht, ob er sich in irgendeiner Art gestaltgebend auswirken könne. Zahlreiche Arbeiten, die sich mit dem Wuchsstoffgehalt nahe verwandter Arten vergleichend beschäftigen, sind bei SÖDING (S. 54ff.) zusammengefaßt.

Öfters wurde das Verhalten von Bäumen im *Jahreslauf* studiert; für sie ist ein rasches Ansteigen der Wuchsstoffabgabe beim Austreiben und ein langsamer Abfall kurze Zeit darauf charakteristisch (ZIMMERMANN 1936, AVERY, BURKHOLDER u. CREIGHTON 1937).

SÖDING (1938, S. 431) stellte Ende Juni bei *Heliopsis* einen erneuten Anstieg der Wuchsstoffabgabe fest, den er mit dem sekundären Dickenwachstum in Verbindung bringt. Wir konnten bei unseren Pflanzen diesen Anstieg nicht

feststellen; die Wuchsstoffabgabe des Haupttriebes sank nach Erreichung eines Höhepunktes gleichmäßig ab und strebte bei *Z-amphivelutina helix* schneller dem Nullpunkt zu als bei der Normalpflanze.

VI. Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse.

Die meisten Pflanzen der so stark im Wachstum gestörten *Oenothera Z-amphivelutina helix* kommen zum Schossen. Bei ihnen fehlen alle Verzweigungen zweiter Ordnung und nur ganz selten werden Seitenäste erster Ordnung blühfähig. Manche Seitentriebe stellen nach der Ausbildung weniger Blätter ihr Wachstum ein, die meisten aber bestehen nur aus einem Blatt, oder einem kleinem Tütchen, oder gar nur einem kurzen Stiftchen, dessen schwaches Gefäßbündel keinen Anschluß an den Gefäßstrang des Haupttriebes gewinnt; wo auch dieses fehlt, ist nur noch eine schwache Vorwölbung in der Blattachsel wahrzunehmen.

Die schweren Wuchsstörungen können sich auch schon bei Keimpflanzen auswirken; dann stirbt der Vegetationspunkt vor der Bildung des 5. Rosettenblattes ab und es entstehen Tütchen oder kurze Spitzen; oft erschöpft sich der junge Vegetationspunkt jedoch, ohne Laubblätter gebildet zu haben, zwischen den abnorm großen Kotyledonen; häufig auftretende Hemmungsformen sind Becher und Schalen, die durch Verwachsen der Keimblätter entstehen.

Die normal vierzähligen Blütenblattkreise werden häufig auf die Drei- oder Zweizahl reduziert. Im Extremfall, vor der gänzlichen Unterdrückung der Blüten, werden nur Stiftchen gebildet, die aus Parenchym und einem schwachen Gefäßbündel bestehen.

Auf den Fruchtknoten wirkt sich das *helix*-Gen hauptsächlich in einer Hemmung der Placenten aus, wodurch in den Früchten weniger Samen zur Entwicklung kommen als in normalen. Blüten, die nur aus zwei oder einem Kelchblatt bestehen, haben keine Fruchtknoten.

Der Hauptstengel der Helixpflanzen wird dicker als der der Normalpflanzen, und an dieser starken Dickenzunahme ist hauptsächlich der Holzkörper beteiligt.

Das Polyderm wird in den Stengeln sichtbar, wenn der Sklerenchymring fertig ausgebildet ist. Um einzeln im Phloëm liegende Sklerenchymzellen entsteht ein zylindrischer Mantel von Polyderm. Nach der zeitlichen Ausbildung des normalen Polyderms und nach den Störungen, die zu Polydermnestern im Phloëm führen, vermuten wir, daß die Polydermlamelle vom Sklerenchym induziert wird.

Die Wuchsstoffteste ergaben einen besonders hohen Wuchsstoffumsatz in der Mutante beim beginnenden Schossen. Früher als die Normalform erreicht sie ihr Wuchsstoffmaximum, welches auch höher liegt. Der hohe Wuchsstoffstand bleibt nur kurze Zeit erhalten und sinkt dann schneller zum Nullpunkt ab als bei der nichtmutierten Form. Die gesunden Achseltriebe der Helix erreichen später ihr Maximum als die der Normalpflanze und geben auch länger Wuchsstoff ab; die in Form eines Blattes oder einer Tüte auftretenden gehemmten Achseltriebe der Mutante geben nur kurze Zeit Wuchsstoff ab.

Die Stengelblätter der Mutante *helix* enthalten mehr Wuchsstoff als die der Normalform und darauf beruht wohl ihre starke Krümmung sowie die Ausbildung von Wucherungen auf ihrem Mittelnerv.

Der hohe Wuchsstoffumsatz beim beginnenden Schossen, die höhere Wuchsstoffabgabe der Gipfelknospe und die stärkere Wuchsstoffproduktion der Stengelblätter bewirken wohl auch die äußerst starke Hemmung der Verzweigungen und der Blüten. Wie weit der hohe Wuchsstoffumsatz in der Mutante auf dem Fehlen einer β-Indolylessigsäure-Oxydase beruht wird noch geprüft.

Da der Wuchsstoffumsatz in der Pflanze von der Lichtintensität ihrer Umgebung abhängt, ist auch die Ausbildung der *helix*-Charaktere an die Lichtverhältnisse der Vegetationsperiode gebunden.

Der Vegetationspunkt des Hauptsprosses stellt sein Wachstum regelmäßig sehr früh mit einer Endblüte ein, die auf jungem Stadium vertrocknet. Unter dem hohen Wuchsstoffeinfluß beendet die Mutante früher ihre Differenzierungen und stirbt daher eher ab als die Normalpflanze.

In Versuchen mit synthetischen Wirkstoffen konnten in einem Fall, nämlich mit 2,4-D, gleiche Blattbecherbildungen an Keimpflanzen erzeugt werden, wie die Mutante sie oft zeigt.

Literatur.

APPLER, H.: Tumorbildung durch *Pseudomonas tumefaciens* und Heteroauxin an *Helianthus annuus*. Biol. Zbl. **70**, 452—469 (1951). — AVERY, G. S., P. R. BURKHOLDER and H. B. CREIGHTON: Growth hormone. Amer. J. Bot. **24**, 51—58 (1937). — AUDUS, L. J., and J. H. QUASTEL: Coumarin as selective phytocidal agent. Nature (Lond.) **159**, 320—323 (1947). — BEAL, J. M.: Histological responses of three species of *Lilium* to indoleacetic-acid. Bot. Gaz. **99**, 881—911 (1938). — BONNER, D. M., A. J. HAAGEN-SMIT and F. W. WENT: Leaf growth hormones. I. A bio-assay and source for leaf growth factors. Bot. Gaz. **101**, 128—144 (1939). BORTHWICK, H. A., K. C. HAMNER and M. W. PARKER: Histological and microchemical studies of the reactions of tomato plants to indoleacetic acid. Bot. Gaz. **98**, 491—519 (1936). — BÜNNING, E.: Die Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953. — CZAJA, A. TH.: Der Nachweis des Wuchsstoffes bei Holzpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 267—271 (1934). — Wurzelwachstum, Wuchsstoff und die Theorie der Wuchsstoffwirkung. Ber. dtsch. bot. Ges. **53**, 221—245 (1935). — Beobachtungen und Versuche zur Physiologie des Periderms und Wundperiderms. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 211—219 (1953). — DELISLE, A. L.: The influence of auxin on secondary branching in two species of *Aster*. Amer. J. Bot. **24**, 159—167 (1937). — DENFFER, D. v.: Durch die Behandlung mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure hervorgerufene Gamophyllien. Ber. dtsch. bot. Ges. **63**, 269—274 (1950). — DENFFER, D. v., u. H. GRÜNDLER: Über wuchsstoffinduzierte Blühhemmung bei Langtagpflanzen. Biol. Zbl. **69**, 272—282 (1950). — DIANNELIDIS, TH., u. K. UMRATH: Vitamin-C-Gehalt und Spaltöffnungszahl von Blättern. Z. Bot. **40**, 349—361 (1952). — GALSTON, A. W., and L. J. DALBERG: The adaptive formation and physiological significance of indoleacetic acid oxidase. Amer. J. Bot. **41**, 373—380 (1954). — GOODWIN, R. H.: The role of auxin in leaf development in *Solidago species*. Amer. J. Bot. **24**, 43—51 (1937). — GORTNER, W. A., and M. KENT: J. of biol. Chem. **204**, 593—603 (1953). Zit. nach Fortschr. Bot. **17** (1955). — HACCIUS, B.: Versuche zur somatischen Beeinflussung der Organbildung pflanzlicher Embryonen. Experientia **11**, 149—156 (1955). — HARRISON, B. F.: Histological responses of *Iresine Lindenii* to indoleacetic acid. Bot. Gaz. **99**, 301—338 (1938). — KOLDA, A.: Zur Anatomie etiolierter und periodisch belichteter Pflanzen und über die Wirkung nachträglicher Kultur am Lichte. Beih. Bot. Cbl., Abt. A **57**, 319—380 (1937). — KRAUS, E. J., N. A. BROWN and K. C. HAMNER: Histological reactions of bean plants to indoleacetic acid. Bot. Gaz. **98**, 370—420 (1936). — KRIBBEN, F. J.: Wuchsstoffuntersuchungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 107—110 (1954). — KROPFITSCH, M.: Spaltöffnungszahl und Heteroauxin. Protoplasma (Wien) **40**, 461—474 (1951). — LAIBACH, F., u. O. FISCHNICH: Über Blattbewegungen unter dem Einfluß von künstlich zugeführtem Wuchsstoff. Biol. Zbl. **56**, 62—68 (1936). — LAIBACH, F., u. G. MAI: Über die künstliche Erzeugung von Bildungsabweichungen bei Pflanzen. Arch. Entw.mechan. **134**, 200—206 (1936). — LAIBACH, F., u. F. J. KRIBBEN: Die Bedeutung des Wuchsstoffes für die Blütenbildung. Beitr. Biol. Pflanz.

29, 339—352 (1953). — Le Fanu, B.: Auxin and correlative inhibition. New Phytologist **35**, 205—220 (1936). — Libbert, E.: Zur Frage nach der Natur der korrelativen Hemmung. Flora (Jena) **141**, 271—297 (1954a). — Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. Planta (Berl.) **44**, 286—318 (1954b). — Link, G. K. K., and V. Eggers: Inhibition of adventitious bud initiation in hypocotyls of flax by indole-β-acetic acid and flax extract. Nature (Lond.) **142**, 398—399 (1938). — Lode, W.: Graphisches Verfahren zum Ausgleich wiederholter Messungen. VDI-Zschr. **90**, 89—90 (1948). — Moewus, F.: Bestimmung des Wuchsstoff- und Hemmstoffgehaltes von Pflanzenextrakten. Züchter **19**, 108—115 (1948). — Gebundener und freier Wuchsstoff in fleischigen Früchten. Planta (Berl.) **37**, 413—430 (1949). — Moewus, F., u. E. Schader: Einfluß von Wuchs- und Hemmstoffen auf das Rhizoidwachstum. Beitr. Biol. Pflanz. **29**, 171—184 (1953). — Müller, G., u. M. Grimm: Über die Beziehung zwischen Spaltöffnungszahl der Laubblätter und Wuchsstoffkonzentration. Z. Bot. **41**, 395—404 (1953). — Mylius, G.: Das Polyderm. Bibliotheca Bot. **18**, H. 79 (1913). — Renner, O.: Zur Kenntnis des Pollenkomplexes *flectens* der *Oenothera atrovirens* Sh. et Bartl. Z. Vererbungslehre **81**, 391—483 (1943). — Über *Oenothera hybrida* mut. *helix*. Planta (Berl.) **42**, 30—41 (1953). — Renner, O., u. H. Schmidt: Die Entwicklungsgeschichte der Wurzeln von *Oenothera* und *Epilobium*. Z. Naturforsch. **7b**, 420—422 (1952). — Rietsema, J., S. Satina and A. F. Blakeslee: The effect of indole-3-acetic acid on *Datura* embryos. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **39**, 924—933 (1953). — On the nature of the embryo inhibitor in ovular tumors of *Datura*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **40**, 424—431 (1954). — Rüdiger, W.: Über die Wirkung von U46 [2,4-D (Na)] auf Lein. Beitr. Biol. Pflanz. **29**, 185—196 (1953). — Schropp, W.: Der Vegetationsversuch I. Die Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen. Radebeul u. Berlin 1951. — Shoji, K., and F. T. Addicott: Auxin physiology in bean leaf stalks. Plant Physiol. **29**, 377—382 (1954). — Snow, M., and R. Snow: Auxin and leaf formation. New Phytologist **36**, 1—18 (1937). — Snow, R.: A hormone for correlative inhibition. New Phytologist **39**, 177—184 (1940). Zit. nach Bünning. — Söding, H.: Über die Wachstumsmechanik der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **79**, 231—256 (1934). — Wuchsstoffbildung und Wuchsstoffverteilung in der Kompositenstaude *Heliopsis laevis* im Laufe einer Vegetationsperiode. Flora (Jena) **132**, 425—446 (1938). — Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — Neue Erkenntnisse der pflanzlichen Wuchsstofforschung. Naturwiss. Rdsch. **7**, 232—235 (1954). — Tang, J. W., and J. Bonner: The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea-seedlings. Arch. of Biochem. **13**, 11—25 (1947). — The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. II. The physiology of the enzyme. Amer. J. Bot. **35**, 570—578 (1948). — Thimann, K. V., and F. Skoog: Studies on the growth hormone of plants III. The inhibiting action of the growth substance on bud development. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **19**, 714—716 (1933). — Further experiments on the inhibition of the development of lateral buds by growth hormone. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **20**, 480—485 (1934). — Uhrova, A.: Über die hormonale Natur der Hemmungswirkung der Blätter bei *Bryophyllum crenatum*. Planta (Berl.) **22**, 411—427 (1934). — Umrath, K.: Dornenbildung, Blattform und Blütenbildung in Abhängigkeit von Wuchsstoff und korrelativer Hemmung. Planta (Berl.) **36**, 262—297 (1949). — Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Jena 1948. — Weiss, J. C.: Beiträge zur Kenntnis der Korkbildung. Denkschr. kgl. bayr. bot. Ges. Regensburg **6**, 1—68 (1890). — Wenck, U.: Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Blattform. Z. Bot. **40**, 33—51 (1952). — Went, F. W.: Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. bot. néerl. **25**, 1—116 (1929). — Zimmermann, W. A.: Untersuchungen über die räumliche und zeitliche Verteilung des Wuchsstoffes bei Bäumen. Z. Bot. **30**, 209—252 (1936).

Dr. P. Chrometzka, München 38, Menzinger Str. 67.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 87, S. 298—310 (1955).

Aus der Zweigstelle Rosenhof des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung.

TETRADENANALYTISCHE AUSWERTUNG EINES 3-PUNKTVERSUCHS BEI *SPHAEROCARPUS DONNELLII* AUST.*.

Von

EDGAR KNAPP und ELISABETH MÖLLER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1955.)

1. Einleitung und Fragestellung.

Früher wurde über eine Reihe von Kreuzungen bei *Sphaerocarpus* berichtet, insbesondere über die tetradenanalytische Auswertung dihybrider Kreuzungen, die 7 verschiedene genetische Loci ein und derselben Koppelungsgruppe betrafen (KNAPP 1937). Inzwischen ist das Material wesentlich erweitert worden. Kriegs- und Nachkriegsereignisse haben den Abschluß dieser Untersuchungen bisher verhindert. Erst 1953 konnten die Arbeiten wieder neu aufgenommen werden, und es wurde mit der Sichtung und Zusammenstellung des bisher vorliegenden Versuchsmaterials begonnen.

Um zu einer Vertiefung unserer Vorstellungen über die sich während der Meiose an den 4 Chromatiden eines Chromosomenpaares abspielenden Austausch- und Verteilungsvorgänge zu kommen, ist es erwünscht, polyhybride Kreuzungen mit Heterozygotie in möglichst vielen zu ein und derselben Koppelungsgruppe gehörenden Genen tetradenanalytisch zu bearbeiten. Im folgenden wird über die Analyse einer Koppelungsgruppe mit Heterozygotie in 3 Loci berichtet. Es handelt sich um die Kreuzung

$$s\ c + ♀ \times + + a\ ♂.$$

Merkmale: *s* = *squamifera:* Statt der Hüllen um Archegonien und Sporogonien bzw. um die Antheridien besitzen *s*-Pflanzen nur schuppenartige Blattlappen; Sporogone und Antheridien erscheinen deshalb nackt, umgeben von diesen Blattlappen.

c = *crispa:* Das Laub ist nicht flach bis wellig mit glattem Rand wie bei der Standardform, sondern kraus mit gezacktem Rand.

a = *atra:* Die Farbe der Pflänzchen ist etwas dunkler grün als beim Standard und das Laub leicht kraus. Auch die Form der Hüllen ist etwas abweichend: bei den ♀♀ sind sie schmäler mit etwas größerer Öffnung, bei den ♂♂ sind die Hälse kürzer. Außerdem sind die Antheridien etwas kleiner.

2. Material und Methodik.

Zur Analyse verwandt wurden 16 Sporogone der mit Nr. 2203 bezeichneten Kreuzung des obigen Typs. Gekreuzt wurde am 30. 4. 41, die Sporogone wurden am 26. 6. 41 geerntet. Aussaat der Sporentetraden vom 18. 11. bis 9. 12. 42 in Petrischalen auf 1,6%igen „Benecke-Agar". Weitere Einzelheiten s. bei KNAPP (1935).

Die Petrischalen mit den ausgelegten Sporentetraden wurden bei Zimmertemperatur um eine normale 200 Watt-Osram-Glühbirne unter Zwischenschaltung eines Kühlwassermantels aufgebaut. Es wurde befriedigende Keimung und eine normale Entwicklung der Moospflänzchen erzielt. Nach der Keimung wurden die Pflänzchen von der Tetrade getrennt und, unter

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Beachtung der gemeinsamen Abstammung aus einer Tetrade, auf eine neue Pertrischale umgesetzt. Zum Teil konnten die unterscheidenden Merkmale schon in den Petrischalen erkannt werden. Zur endgültigen Beurteilung wurden die Pflänzchen noch auf Erde umgepflanzt und im Gewächshaus weiterkultiviert. Hier waren die Merkmale im allgemeinen gut erkennbar. Nur die Erkennung des Merkmals *a* machte manchmal Schwierigkeiten, insbesondere bei gleichzeitiger Anwesenheit von *s*. Eventuelle Zweifel konnten aber meist durch mehrfache Beobachtung der weiterkultivierten Pflänzchen behoben werden.

Von 2 der 16 Sporogone (Sporogon A und B) wurden jeweils 100 Tetraden einzeln auf Agar ausgelegt und diese beiden Sporogone getrennt ausgewertet. Der Rest der Tetraden dieser beiden Sporogone wurde verworfen. Der Inhalt der 14 übrigen zur Untersuchung verwendeten Sporogone wurde vermischt. Hiervon wurden 950 Tetraden einzeln ausgelegt.

3. Ergebnisse.

In Tabelle 1 sind die Keimungsverhältnisse der insgesamt 1150 ausgelegten Tetraden wiedergegeben, aufgegliedert nach den beiden Sporogonen A und B und dem Posten aus den 14 übrigen Sporogonen. Bei den weiteren Darlegungen werden wir stets die Ergebnisse aus allen 16 Sporogonen zusammenfassen.

Tabelle 1. *Übersicht über die Keimverhältnisse der Tetraden in den einzelnen Sporogonen.*

	Sporogon A absolut = %	Sporogon B absolut = %	Rest		Insgesamt	
			absolut	%	absolut	%
Tetraden mit 4 Keimen	62	40	707	74,4	809	70,3
Tetraden mit 3 Keimen	29	40	169	17,8	238	20,7
Tetraden mit 2 Keimen	8	19	45	4,7	72	6,3
Tetraden mit 1 Keim	1	1	7	0,7	9	0,8
Tetraden mit 0 Keimen	—	—	22	2,3	22	1,9
Summe	100	100	950		1150	

a) Koppelungsanalyse. Von den 16 Sporogonen wurden also insgesamt 4600 Sporen in 1150 Sporentetraden ausgesät. Es ergaben

809	Tetraden	je 4	Keime,	also	3236	Keime
238	„	„ 3	„	„	714	„
72	„	„ 2	„	„	144	„
9	„	„ 1	„	„	9	„
22	„	„ 0	„	„	0	„

Insgesamt keimten also 4103 der 4600 Sporen, das sind 89,1%.

In Tabelle 2 sind die Häufigkeiten der tatsächlich festgestellten Genotypen wiedergegeben, unabhängig von ihrem Auftreten in den verschiedenen Tetraden, und zwar einmal unter Berücksichtigung sämtlicher Pflänzchen, gleichgültig, ob die betreffende Tetrade tetradenanalytisch ausgewertet werden konnte oder nicht, zum andern unter Berücksichtigung nur der Pflänzchen, die aus vollgekeimten und deshalb zur Tetradenanalyse verwendeten Tetraden hervorgegangen sind. Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in der relativen Häufigkeit der einzelnen Genotypen und der Austauschhäufigkeiten, wenn man das eine Mal sämtliche aufgetretenen Keime, das andere Mal nur die Keime aus vollgekeimten Tetraden berücksichtigt.

Die Koppelung der Loci *s*, *c* und *a* und ihre Anordnung in der angegebenen Reihenfolge ist danach klar. In Abb. 1a ist die Anordnung der Loci mit den zugehörigen Abständen auf Grund der Austauschhäufigkeiten bei Berücksichtigung sämtlicher Pflanzen eingetragen.

b) Tetradenanalyse. Tetradenanalytisch konnten 806 der 809 vollgekeimten Tetraden ausgewertet werden. Außerdem waren 236 der 238 Tetraden mit 3 Keimen unter der Voraussetzung auswertbar, daß in jeder Tetrade 2 ♀♀ und 2 ♂♂ vorliegen und daß außerdem die beiden Allele jedes der 3 Loci ebenfalls in je 2 Pflanzen jeder Tetrade vorkommen, wie es der Fall sein muß, wenn nicht irgendwelche Unregelmäßigkeiten vorliegen. (Über die restlichen 5 Tetraden s. S. 304—305). Außerdem hätte noch ein Teil der 72 Tetraden mit 2 Keimen ergänzt werden können, aber nur bei bestimmten Genkombinationen. Um diese Typen nicht zu bevorzugen, mußte jedoch auf die Berücksichtigung der Tetraden mit nur 2 Keimen grundsätzlich verzichtet werden.

Tabelle 2. *Häufigkeiten der 16 verschiedenen Genkombinationen.*

	Insgesamt		Bei Tetraden mit 4 Keimen	
	absolut	%	absolut	%
s c + ♀	913	22,3	698	21,7
s c + ♂	812	19,8	662	20,5
+ + *a* ♀	901	21,9	663	20,5
+ + *a* ♂	830	20,2	698	21,7
s c | *a* ♀	121	3,0	100	3,1
s c | *a* ♂	141	3,4	114	3,5
+ +| + ♀	155	3,8	113	3,5
+ +| + ♂	125	3,0	100	3,1
s | + *a* ♀	21	0,5	17	0,5
s | + *a* ♂	17	0,4	15	0,5
+| *c* + ♀	19	0,5	15	0,5
+| *c* + ♂	25	0,6	18	0,6
s |+| + ♀	10	0,2	3	0,1
s |+| + ♂	5	0,1	3	0,1
+| *c* | *a* ♂	6	0,2	3	0,1
+| *c* | *a* ♀	2	< 0,1	2	< 0,1
	4103		3224	
Austausch *s*|*a*	624 =	15,2%	492 =	15,6%
,, *c*|*a*	565 =	13,8%	438 =	13,6%
,, *s*|*c*	105 =	2,6%	76 =	2,4%

Bei vollgekeimten Tetraden konnte unter der obengenannten Voraussetzung der Genotyp der Pflanzen durch Vergleich sämtlicher 4 Tetradenabkömmlinge gesichert werden. Im Interesse einer größeren Sicherung der experimentellen Befunde werden bei der weiteren Auswertung nur die vollgekeimten Tetraden berücksichtigt, was um so mehr gerechtfertigt erscheint, als einer Häufigkeit der vollgekeimten Tetraden von 70,3% eine Häufigkeit der Tetraden mit 3 Keimen von nur 20,7% gegenübersteht.

Theoretisch sind bei 4 Merkmalspaaren 60 verschiedene Tetradentypen möglich (s. Anhang), die 0 bis 4 Austausche auf der Strecke *s—a* erfordern würden. Tatsächlich waren jedoch nur 20 Tetradentypen realisiert, die alle durch 0 bis 2 Austausche erklärt werden können. Wie weiter unten näher ausgeführt wird, sind mit großer Wahrschein-

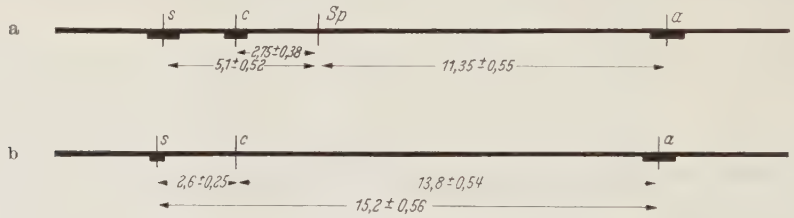


Abb. 1 a u. b. Lage der untersuchten Gene im *squamifera*-Chromosom. a Auf Grund der Austauschhäufigkeiten zwischen *s*, *c* und *a*. b Auf Grund der Häufigkeit der Postreduktionen der einzelnen Gene. Graphisch sind die einfach mittleren Fehler eingetragen.

lichkeit auf der Strecke *s—a* tatsächlich nicht mehr als 2 Austausche aufgetreten. In Tabelle 3 sind nur die 30 der 60 theoretisch möglichen Tetradentypen aufgeführt, die bei 0, 1 oder 2 Austauschen zwischen *s* und *a* möglich sind. und die Häufigkeit ihres tatsächlichen Auftretens angegeben.

Wie schon früher gezeigt wurde (KNAPP 1936, 1937), dürfte der das Geschlecht bestimmende unifaktoriell spaltende Unterschied, der durch den X-Y-Chromosomenmechanismus gegeben ist, bei *Sphaerocarpus* stets präreduktionell verteilt werden. Jedenfalls sind bisher keine Ausnahmen von dieser Regel bekannt geworden, und wir gehen bei allen unseren weiteren Überlegungen von der Annahme

Tabelle 3. *Häufigkeit der verschiedenen Austausch- und Tetradentypen.*

Tetradentyp ♀ ♀ ♂ ♂	Aufgetreten Anzahl	Aufgetreten %	Anzahl der Postreduktionen für *s*	*c*	*a*	Entstanden durch Austauschtyp Nr.
s c + *s c* + + + *a* + + *a*	292	69,5				1, 17
+ + *a* + + *a* *s c* + *s c* +	268					
s c + *s c a* + + + + + *a*	76	20,2			163	2, 18, 19
+ + + + + *a* *s c* + *s c a*	87					
s c + + + + *s c a* + + *a*	17	4,5	36	36		3
s c a + + *a* *s c* + + + +	19					
s c + + *c* + *s* + *a* + + *a*	13	3,2	26			4
s + *a* + + *a* *s c* + + *c* +	13					
s c + + + *a* *s c* + + + *a*	4	0,5	4	4	4	5
s c + + + *a* *s c a* + + +	1	0,2	2	2	2	6, 7
s c a + + + *s c* + + + *a*	1					
s c a + + + *s c a* + + +	2	0,2	2	2	2	8
s c + + *c a* *s* + + + + *a*	1	0,2	2		2	9
s + + + + *a* *s c* + + *c a*	1					
s c a + *c* + *s* + + + + *a*	2	0,5	4		4	10
s + + + + *a* *s c a* + *c* +	2					
s c + + *c a* *s* + *a* + + +	2	0,4	3		3	11
s + *a* + + + *s c* + + *c a*	1					
s c a + *c* + *s* + *a* + + +	—	0,4	3		3	12
s + *a* + + + *s c a* + *c* +	3					
s c + *s* + + + *c a* + + *a*	—	0		0		13
+ *c a* + + *a* *s c* + *s* + +	—					
s + + + *c* + *s c a* + + *a*	—	0	0	0		14
s c a + + *a* *s* + + + *c* +	—					
s c + + + + *s* + *a* + *c a*	—	0	0	0		15
s + *a* + *c a* *s c* + + + +	—					
+ + + + *c* + *s* + *a* *s c a*	—	0		0		16
s + *a* *s c a* + + + + *c* +	—					
s c a *s c a* + + + + + +	—	0,1				20
+ + + + + + *s c a* *s c a*	1					
Summe	806		82	44	183	
% Postreduktionen			10,2	5,5	22,7	

einer präreduktionellen Verteilung des geschlechtsbestimmenden unifaktoriell spaltenden Unterschieds (der „Geschlechtsrealisatoren") aus. Diese Annahme steht auch in Übereinstimmung mit zytologischen Beobachtungen (Lorbeer 1934).

Damit ist es uns möglich, die 4 Sporen der Tetraden, die ja auf Grund ihrer räumlichen Anordnung die Reihenfolge ihrer Entstehung durch die beiden Teilungsschritte der Meiosis nicht erkennen lassen, zu ordnen: Im ersten Teilungsschritt wurden die beiden weiblichen von den beiden männlichen Sporen getrennt, der 2. Teilungsschritt führte zur Trennung der beiden Sporen des gleichen Geschlechts. Für jedes weitere Allelenpaar läßt sich also ohne weiteres sagen, ob es prä- oder postreduktionell verteilt worden ist. So konnten in Tabelle 3 die Häufigkeiten der Postreduktionen für die Loci *s*, *c* und *a* eingetragen werden.

Weiter nehmen wir auf Grund unserer früheren Befunde und im Einklang mit der herrschenden Auffassung an, daß die Spindelfaseransatzstelle (Centromer) stets präreduziert und daß Postreduktionen der einzelnen Loci durch Crossing-over im Vierstrangstadium zwischen der Spindelfaseransatzstelle und dem betreffenden Locus erfolgen, wobei nur 2 der 4 Chromatiden an einem Crossing-over beteiligt sind. Die Häufigkeit der Postreduktionen ist also ein Maß für den genetischen Abstand von der Spindelfaseransatzstelle, wobei jedoch, da nur in 2 der 4 Sporen einer postreduktionellen Tetrade Austausch zwischen dem untersuchten Locus und der Spindelfaseransatzstelle erfolgte, der Prozentsatz der Postreduktionen zu halbieren ist (s. Knapp 1936).

In Abb. 1 b ist der so errechnete Abstand der Loci von der Spindelfaseransatzstelle eingetragen. Ob *s*, *c* und *a* links oder rechts der Spindelfaseransatzstelle liegen, kann auf Grund der Häufigkeit ihrer postreduktionellen Verteilung allein freilich nicht festgestellt werden. In Abb. 1 b ist die Reihenfolge gewählt, die sich aus der Koppelungsanalyse (Abb. 1a) ergibt. Um Abb. 1a und Abb. 1b besser vergleichen zu können, ist *c* in beiden Abbildungen übereinandergelegt. Wie man sieht, stimmen die nach beiden Methoden errechneten Genabstände (map-distance) gut miteinander überein.

Wir wollen nun versuchen, aus dem Auftreten der verschiedenen Tetradentypen weitere Schlüsse über die Crossover-Vorgänge zwischen den 4 Chromatiden unseres Chromosomenpaares auf der Strecke zwischen *s* und *a* zu ziehen. Aus der Koppelungsanalyse konnten wir lediglich das Vorkommen von Einfach- und von Doppelaustauschen feststellen.

Zunächst nehmen wir einmal an, daß auf dieser Strecke wegen Interferenz nicht mehr als 2 Austausche vorkommen können, ferner, daß auf den kurzen Strecken zwischen *s* und *c*, sowie zwischen *c* und der Spindelfaseransatzstelle jeweils höchstens 1 Austausch möglich ist. Wir werden nachher prüfen, ob diese Annahmen als gesichert gelten können oder wenigstens wahrscheinlich sind.

Unter den genannten Voraussetzungen ergeben sich also 20 verschiedene Typen des Austausches (Crossovers) zwischen den 4 Chromatiden, je nachdem, ob 0, 1 oder 2 Crossovers vorliegen, wo diese Austausche erfolgen und ob, im Fall von 2 Austauschen, daran nur 2 oder 3 oder alle 4 Chromatiden beteiligt sind. Diese 20 möglichen Crossover-Typen (Austauschtypen) sind in Abb. 2 schematisch dargestellt.

Diese 20 Crossover-Typen (Austauschtypen) führen zu 30 verschiedenen der 60 Tetradentypen, die bei 4 Merkmalspaaren theoretisch möglich sind; die restlichen 30 der 60 theoretisch möglichen Tetradentypen können durch keinen dieser 20 Crossover-Typen auftreten; sie würden mehr als einen Austausch auf den kurzen Strecken *s*—*c* oder *c*—*Sp* oder mehr als 2 Austausche auf der Strecke *s*—*a* erfordern. Zu welchen Tetradentypen die 20 verschiedenen Crossover-Typen führen, geht ebenfalls aus Tabelle 3 hervor.

Es ist nun zu prüfen, ob unsere Annahme, daß zwischen *s* und *c*, sowie zwischen *c* und *Sp* höchstens *ein* Crossover, auf der Gesamtstrecke zwischen *s* und *a* aber höchstens deren 2 vorkommen, richtig ist.

Die 8 Tetradentypen, die ihre Entstehung den Crossover-Typen 13—16 verdanken würden, sind überhaupt nicht aufgetreten. Das bedeutet, daß auf der

Strecke zwischen der Spindelfaseransatzstelle und *s*, die wir mit 5,1 Morgan-Einheiten bestimmt haben, unter 806 Fällen nicht *ein* Mal ein gleichzeitiges Crossover zwischen *s* und *c* und zwischen *c* und *Sp* aufgetreten ist. Noch viel unwahrscheinlicher ist natürlich ein doppeltes Crossover innerhalb einer der beiden Teilstrecken *s*—*c* und *c*—*Sp*.

Daß nicht mehr als 2 Crossover auf der Gesamtstrecke vorkommen, läßt sich ebenfalls wahrscheinlich machen. Nachdem schon zwischen *s* und *Sp* unter 806 Tetraden nicht *ein* doppeltes Crossover vorgekommen ist, wäre es erstaunlich, wenn ein doppeltes Crossover zwischen *s* und *Sp* mit einem weiteren Crossover zwischen *Sp* und *a* kombiniert wäre. Diese Kombination müßte, wie nicht näher ausgeführt werden soll, zu 16 verschiedenen neuen Tetradentypen führen, je nach der Beteiligung der verschiedenen Chromatiden an diesen 3 Crossovers. Keiner dieser 16 Tetradentypen ist auch nur *einmal* aufgetreten.

Ist aber anzunehmen, daß zwischen *s* und *a* 3 Crossover vorgekommen sind, die so verteilt wären, daß 2 zwischen *Sp* und *a* und 1 zwischen *s* und *Sp* lägen?

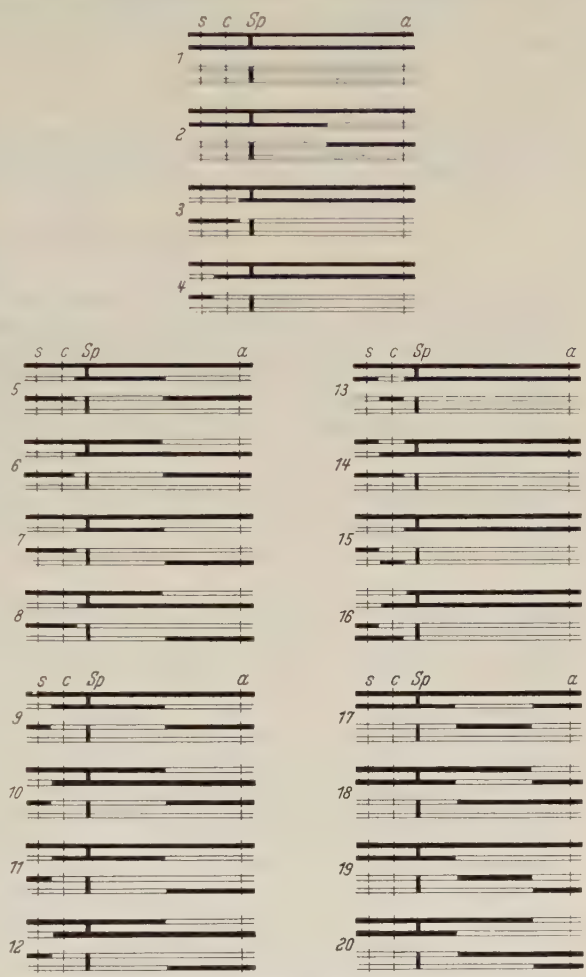


Abb. 2. Die 20 möglichen Austauschtypen.

Doppelaustausch zwischen *Sp* und *a* ist nachweisbar nur *ein* Mal aufgetreten, nämlich als Austauschtyp 20. Die Austauschtypen 17, 18 und 19 sind in gleicher Häufigkeit zu erwarten wie Typ 20, können aber nicht erkannt werden, weil sie zu denselben Tetradentypen führen wie die viel häufigeren Austauschtypen 1 bzw. 2. Bei diesem seltenen Vorkommen von Doppelaustauschen zwischen *Sp* und *a* erscheint ein 3facher Austausch zwischen *s* und *a* äußerst unwahrscheinlich.

Würde außer dem Doppelaustausch zwischen *Sp* und *a* ein weiterer Austausch zwischen *s* und *c* aufgetreten sein, so würde ein solcher, je nach der Beteiligung der 4 Chromatiden, nur in einem Viertel der Fälle zu 2 Tetradentypen

führen, die nicht auch durch 1 oder 2 Austausche erklärbar wären. Diese beiden bei einem solchen 3fachen Austausch zu erwartenden Tetradentypen sind aber nicht aufgetreten.

Würde der 3. Austausch statt zwischen *s* und *c* zwischen *c* und *Sp* liegen, so würde er in keinem Fall zu neuen Tetradentypen führen. Ein solcher 3facher Austausch wäre also nicht nachzuweisen. Er erscheint aber noch unwahrscheinlicher als der obengenannte Fall.

Wir können also mit einem sehr hohen Grad von Sicherheit annehmen, daß tatsächlich kein 3faches Crossover auf der nach Abb. 1 16—17 Morgan-Einheiten umfassenden Strecke *s*—*a* aufgetreten ist.

4. Fehlermöglichkeiten.

a) Erkennbarkeit der Merkmale. Die Merkmale *squamifera* und *crispa* sind in allen bei der analysierten Kreuzung vorkommenden Kombinationen völlig eindeutig erkennbar. Das Merkmal *atra* ist etwas schwieriger zu erkennen, vor allem dann, wenn es mit *squamifera* kombiniert ist. In zweifelhaften Fällen wurden die Pflänzchen so lange weiterkultiviert und mehrmals beobachtet, bis eine eindeutige Entscheidung möglich war. Wenn man von der Voraussetzung ausgeht, daß jedes Merkmal in 2 der 4 Abkömmlinge einer Tetrade auftreten muß, können bei vollgekeimten Tetraden die Bestimmungen durch Vergleich der 4 Abkömmlinge einer Tetrade kontrolliert werden. Mit Ausnahme von 3 vollgekeimten Tetraden, die weiter unten noch besprochen werden, traten bei den vollgekeimten Tetraden auch keine Widersprüche zu der oben gemachten Voraussetzung auf. Um auf die Möglichkeit einer Kontrolle der Ergebnisse durch Vergleich sämtlicher 4 Abkömmlinge einer Tetrade nicht verzichten zu müssen, wurden, wie S. 300 schon erwähnt, nur die vollgekeimten Tetraden zur Auswertung herangezogen.

Wenn man außer den vollgekeimten Tetraden auch noch die Tetraden mit nur 3 Abkömmlingen zur Auswertung heranziehen würde, würde sich die Zahl der auswertbaren Tetraden von 806 auf 1042 erhöhen. Eine signifikante Änderung in der relativen Häufigkeit der verschiedenen Tetradentypen ergibt sich nicht, mit einer Ausnahme: Der durch Austauschtyp 5 zu erklärende Tetradentyp *s c* + ♀, + + *a* ♀, *s c* + ♂, + + *a* ♂ erscheint unter den 806 vollgekeimten Tetraden nur 4mal, das sind 0,5% der Fälle, unter den 238 Tetraden mit 3 Keimen aber 9mal, das sind 3,8% der Fälle. Bei 8 dieser 9 Fälle wurde das + + *a* ♂ ergänzt. Der Verdacht liegt nahe, daß eine der beiden als *s c* + bestimmten Pflanzen in dem einen oder anderen Falle tatsächlich *s c a* war, da, wie oben ausgeführt, *a* in der Kombination mit *s* schwierig zu erkennen ist. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre die, daß in den betreffenden Tetraden Rückmutationen $a \rightarrow a^+$ erfolgt sind. Der Verdacht, daß solche Rückmutationen gelegentlich vorgekommen sein könnten, wird durch die Analyse der 3 weiter unten näher zu besprechenden nicht ausgewerteten vollgekeimten Tetraden bestärkt. Unter diesen Umständen erübrigen sich wohl weitere Spekulationen über die zu große Häufigkeit des Austauschtypes 5, die eine Chromatideninterferenz bei 2 Brüchen in kurzem Abstand beiderseite der Spindelfaseransatzstelle vermuten lassen könnte. Immerhin muß diese Frage durch neue Untersuchungen nochmals geprüft werden.

b) Sonstige Fehlermöglichkeiten. Selbstverständlich ist beim Trennen der 4 Abkömmlinge einer Tetrade und beim Pikieren und Umpflanzen der Pflänzchen größte Sorgfalt erforderlich. Bei der starken Regenerationsfähigkeit von *Sphaerocarpus* kann ein an der Präpariernadel hängengebliebenes Thallusstückchen, das von einer Tetrade zu einer andern verschleppt wird, schon zu einem Fehler führen. Derartige Fehler müssen sich bei vollgekeimten Tetraden durch Vergleich der 4 Abkömmlinge ebenfalls herausstellen.

c) Nicht ausgewertete Tetraden. Wie weiter oben schon erwähnt worden ist, konnten von den 809 vollgekeimten Tetraden nur 806 zur Auswertung herangezogen werden. Bei 3 vollgekeimten Tetraden traten folgende Unklarheiten oder Widersprüche auf:

1. Die 4 Tetradenabkömmlinge wurden folgendermaßen bestimmt: *s* + + ♀, + + + ♀, + *c* + ♂ und *s c a* ♂. Es fehlt hier also einmal das Merkmal *atra*. Obwohl die 3 Pflanzen ohne *a* immer wieder beobachtet wurden, konnte bei ihnen das Merkmal nicht festgestellt

werden. Entweder liegt also eine Mutation $a \rightarrow a^+$ vor oder es muß durch irgendeinen Fehler beim Umpflanzen eine Pflanze aus einer anderen Tetrade verschleppt worden sein.

2. Hier wurden folgende Genotypen der 4 Tetradenabkömmlinge gefunden: $+ c a$ ♀, $+ + +$ ♀, $s c +$ ♂ und $s + +$ ♂. Auch hier fehlt also ein a und es kommen dieselben Möglichkeiten in Frage wie bei der vorigen Tetrade.

3. Bei der 3. unklaren Tetrade wurde das Merkmal *squamifera* bei 3 Pflanzen, das Merkmal *atra* nur bei 1 Pflanze beobachtet. Es handelte sich um folgende Genotypen: $+ + +$ ♀, $s + +$ ♀, $s c +$ ♂ und $s c a$ ♂. Hier müßten also, wenn beim Umpflanzen der Tetradenabkömmlinge kein Fehler vorkam, 2 Mutationen erfolgt sein, nämlich $s^+ \rightarrow s$ und $a \rightarrow a^+$. Dies erscheint recht unwahrscheinlich.

Bei den Tetraden mit 3 Keimen ergaben sich in 2 Fällen Unklarheiten: In einer Tetrade trat bei einer der 4 Pflanzen eine neue Mutante auf, die die Bestimmung der Allele der 3 interessierenden Loci nicht einwandfrei ermöglichte. Bei der anderen Tetrade wurden folgende Genotypen bestimmt: $+ + a$ ♀, $+ + +$ ♀ und $+ + a$ ♂. Hier fehlt also mindestens einmal s und einmal c. Es dürfte wohl ein Fehler beim Umpflanzen vorgelegen haben.

5. Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Ergebnisse haben wiederum bestätigt, daß bei *Sphaerocarpus* das Centromer (Spindelfaseransatzstelle, *Sp*) stets präreduktionell verteilt wird, und daß die Postreduktionen einzelner Loci durch die Austausche zwischen 2 homologen Chromatiden im Vierstrangstadium zwischen dem Centromer und dem betreffenden Locus erfolgen.

Entsprechend der Aufstellung von „Genkarten" auf Grund der Häufigkeit des Austausches zwischen 2 Loci können wir also die Lage der einzelnen Loci in bezug auf das Centromer auf Grund der Häufigkeit der Postreduktionen für die betreffenden Loci festlegen.

Von der Koppelungsgruppe, zu der die in die vorliegende Untersuchung einbezogenen Loci gehören, waren bereits 7 Loci lagemäßig bestimmt (s. Knapp 1937), darunter auch der diesmal wieder untersuchte Locus *s* (*squamifera*) in einem Abstand von 5,3 ME links vom Centromer. Der neue Locus *c* (*crispa*) liegt zwischen *s* und dem Centromer, der neue Locus *a* (*atra*) jenseits der Centromers im Abstand von 11,3 ME von diesem. Wir haben also den Bereich in unmittelbarer Nachbarschaft der Spindelfaseransatzstelle untersucht. In diesem traten 0 bis 2 Austausche, die letzteren nur sehr selten, auf. Dreifacher Austausch ist mit einem sehr hohen Grad von Wahrscheinlichkeit überhaupt nicht aufgetreten.

Genetische Interferenz. Bei der Tetradenanalyse kann die Beteiligung der 4 Chromatiden an den verschiedenen Austauschvorgängen in ihrem Verhältnis zueinander erfaßt werden. Damit ergeben sich durch die Tetradenanalyse größere Möglichkeiten gegenüber der durch das übliche genetische Experiment durchführbaren Untersuchung des Austauschverhaltens. So lassen sich auch bestimmte Doppelaustausche zwischen 2 nicht durch einen weiteren Locus getrennten Loci erkennen. Die Frage der genetischen Interferenz kann also tetradenanalytisch eingehender geprüft werden.

a) Interferenz auf der Strecke *Sp*—*a*. Wir stellen uns zunächst die Frage, wie häufig auf der Strecke zwischen dem Centromer und dem Locus *a* 2 Austausche vorkommen würden, wenn keinerlei Interferenz bestünde.

Einfache Austausche zwischen dem Centromer und *a* liegen bei den Austauschtypen 2 und 5—12 vor, ferner je 2 Austausche bei den Typen 17—20. Die Gesamtzahl der Austausche auf dieser Strecke errechnet sich folgendermaßen: Die Zahl der Tetraden mit einfachem Austausch nach Typ 2 und 5—12 beträgt 183 (s. Tabelle 3). Von den Tetraden mit doppeltem Austausch

zwischen dem Centromer und *a* (Austauschtyp 17 –20) läßt sich nur der Typ 20 von einfacheren Austauschvorgängen unterscheiden. Dieser Typ ist einmal aufgetreten. Da die Austauschtypen 17, 18 und 19 mit gleicher Wahrscheinlichkeit wie Typ 20 zu erwarten sind, wenn keine Chromatideninterferenz vorliegt, können wir 4 Tetraden mit je 2 Austauschen zwischen *Sp* und *a*, also 8 weitere Austausche annehmen. Da die Tetraden nach Austauschtyp 18 und 19 identisch sind mit den nach Austauschtyp 2 durch einfachen Austauschtyp entstandenen Tetraden (s. Tabelle 3), wurde je 1 Austausch nach Typ 18 und 19 bereits mitgezählt und ist in den obengenannten 183 Tetraden enthalten, so daß infolge Doppelaustausch nicht 8, sondern nur noch 6 Austausche dazuzuzählen wären. Das ergibt also 189 Austausche in unseren 806 analysierten Tetraden oder 23,4%.

Wenn unter 806 analysierten Tetraden insgesamt 189 Austausche zwischen *Sp* und *a* erfolgen, so errechnet sich bei rein zufallsgemäßer Verteilung dieser 189 Austausche auf die 806 Tetraden, die Zahl der zu erwartenden Tetraden mit 0, 1, 2, 3 Austauschen nach der Poisson-Verteilung wie folgt, wobei für 189/806 λ gesetzt ist[1]:

$$0 \text{ Austausche: } 806 \cdot e^{-\lambda} = 637{,}3 \text{ Tetraden,}$$

$$1 \text{ Austausch: } 806 \cdot e^{-\lambda} \cdot \frac{\lambda}{1!} = 149{,}5 \text{ Tetraden,}$$

$$2 \text{ Austausche: } 806 \cdot e^{-\lambda} \cdot \frac{\lambda^2}{2!} = 17{,}5 \text{ Tetraden,}$$

$$3 \text{ Austausche: } 806 \cdot e^{-\lambda} \cdot \frac{\lambda^3}{3!} = 1{,}37 \text{ Tetraden,}$$

$$n \text{ Austausche: } 806 \cdot e^{-\lambda} \cdot \frac{\lambda^n}{n!}$$

Aus unseren Experimenten folgern wir aber, daß 181 Tetraden mit einfachem Austausch und 4 Tetraden mit Doppelaustausch aufgetreten sind, wobei wir jedoch, wie oben ausgeführt, die Zahl der Tetraden mit Doppelaustausch auf Grund des nur einmal aufgetretenen Austauschtyps 20 errechnen mußten. Dies zeigt aber auch, daß eine außerordentlich große statistische Unsicherheit besteht. Für eine statistisch genügend gesicherte Aussage über das Vorliegen einer Interferenz innerhalb der Strecke *Sp*—*a* reicht der Umfang des Versuchsmaterials also leider nicht aus. Immerhin liegt eine gewisse Wahrscheinlichkeit für eine solche nach unseren früheren Ergebnissen und den sonstigen Erfahrungen zu erwartende Interferenz vor. Es kam uns darauf an, die grundsätzliche Möglichkeit der Feststellung einer Interferenz innerhalb einer nicht durch einen 3. Locus unterteilten Strecke zu zeigen.

b) Interferenz auf der Strecke *s*—*Sp*. Diese Strecke ist durch den Locus *c* in die beiden Teilstrecken *s*—*c* und *c*—*Sp* unterteilt. Auf der Teilstrecke *s*—*c* ist in 38 der 806 Tetraden ein Austausch erfolgt (Austauschtyp 4 und 9—12 in Tabelle 3), auf der Teilstrecke *c*—*Sp* in 44 Tetraden (Austauschtyp 3 und 5—8). Tetraden mit gleichzeitigem Austausch auf beiden Teilstrecken wären also $806 \cdot \frac{38}{806} \cdot \frac{44}{806} = 2{,}1$ mal zu erwarten. Tatsächlich wurde gleichzeitiger Austausch auf diesen beiden Teilstrecken (Austauschtyp 13—16) überhaupt nicht festgestellt.

c) Interferenz auf der Strecke *s*—*a*. Diese Strecke kann in die beiden Teilstrecken *s*—*Sp* und *Sp*—*a* unterteilt werden, wenn man die Strecken *s*—*c* und *c*—*Sp*, auf denen nie ein gleichzeitiger Austausch gefunden wurde, zusammen-

[1] Herrn Dr. Ochs danken wir für wertvolle Hinweise zur mathematischen Behandlung.

faßt. Auf der Teilstrecke *s—Sp* ist in 82 Tetraden, auf der Teilstrecke *Sp—a* in 181 Tetraden je ein einfacher Austausch aufgetreten. Die 4 errechneten Doppelaustausche auf der Strecke *Sp—a* berücksichtigen wir nicht, so daß sich die genannte Häufigkeit der Tetraden mit Austausch zwischen *s—Sp* bzw. *Sp—a* auf eine Gesamttetradenzahl von 802 bezieht. Theoretisch sind also $802 \cdot \frac{82}{802} \cdot \frac{181}{802} = 18{,}5$ Tetraden mit Doppelaustausch zu erwarten. Tatsächlich wurden 20 solcher Tetraden mit je einem Austausch links und rechts des Centrometers festgestellt (Austauschtyp 5—12). Danach scheint also keine Interferenz über das Centromer hinweg vorzuliegen.

Frage der Chromatiden-Interferenz. Früher (Knapp 1937) wurde wahrscheinlich gemacht, daß zwischen 2 an verschiedenen Stellen des *squamifera*-Chromosoms erfolgten Brüchen Unabhängigkeit in bezug auf die beiden an den einzelnen Brüchen beteiligten Chromatiden besteht, daß also keine Chromatiden-Interferenz vorliegt. Bei der vorliegenden Untersuchung konnte die Frage einer Chromatiden-Interferenz durch Vergleich der Häufigkeiten der Austauschtypen 5, 6, 7 und 8, sowie durch Vergleich der Häufigkeiten der Austauschtypen 9, 10, 11 und 12 geprüft werden. Die Austauschtypen 13—16 sind gar nicht aufgetreten, und von den Austauschtypen 17—20 lassen sich die Typen 17—19 in ihrem Ergebnis nicht von einfacheren Austauschtypen unterscheiden, so daß auch diese Gruppe für die Prüfung der Frage einer Chromatiden-Interferenz nicht herangezogen werden kann.

Betrachten wir zunächst die Austauschtypen 9—12, bei denen je ein Bruch zwischen *s* und *c* und zwischen *Sp* und *a* aufgetreten ist. Diese kamen 2, 4, 3 und 3mal vor (s. Tabelle 3). Diese Häufigkeiten stimmen mit genügender Wahrscheinlichkeit mit der Annahme eines gleichhäufigen Auftretens der 4 Typen, d. h. einer zufallsgemäßen Beteiligung der 4 Chromatiden an den beiden Brüchen überein.

Bei den Austauschtypen 5—8, die je einen Austausch zwischen *c* und *Sp* und zwischen *Sp* und *a* aufweisen, sind die Austauschtypen 6 und 7 nicht voneinander zu unterscheiden, da beide zu den gleichen Tetradentypen führen. Die Typen 5, 6 + 7 und 8 wären also bei zufallsgemäßer Beteiligung der Chromatiden an den beiden Brüchen im Verhältnis 1:2:1 zu erwarten. Sie sind 4, 2 und 2mal vorgekommen. Hier könnte also eine geringe Verschiebung des Verhältnisses zugunsten des Austauschtyps 5 vorliegen, bei dem beide Brüche zwischen denselben Chromatiden erfolgt sind. Bei der geringen absoluten Häufigkeit der Typen 5—8 erscheint es jedoch vorläufig nicht berechtigt, auf ein wirkliches Vorliegen einer Chromatiden-Interferenz in dem untersuchten Chromosomenbereich beiderseits des Centromers zu schließen, und diese Frage bedarf einer erneuten Prüfung. — Bezüglich der relativ größeren Häufigkeit des durch Austauschtyp 5 entstehenden Tetradentyps bei Auswertung der Tetraden mit nur 3 Abkömmlingen sei auf S. 304 verwiesen.

Werden sämtliche zwischen *s* und *Sp* einerseits und zwischen *Sp* und *a* andererseits erfolgten Austausche verglichen, so ergeben sich für die Austauschtypen 5 + 9, 6 + 7 + 10 + 11 und 8 + 12 die Häufigkeiten 6, 9 und 5, was mit dem bei unabhängiger Beteiligung der Chromatiden an den beiden Austauschen zu erwartenden Verhältnis von 1:2:1 gut übereinstimmt.

Anhang: Zahl der theoretisch möglichen Tetradentypen von Elisabeth Möller.

Anschließend sollen noch die Zahlen für die theoretisch möglichen Tetradentypen abgeleitet werden. In Abb. 3 sind die 6 Möglichkeiten der Verteilung der beiden Allele eines heterozygoten Locus auf je 2 der 4 Gonen dargestellt.

Wenn die Reihenfolge der 4 Tetradenabkömmlinge bei linearer Anordnung sich normal durch die beiden Teilungsschritte der Meiosis ergibt, so läßt sich aus der Anordnung der beiden Typen (a und A) ohne weiteres erkennen, ob diese Allele prä- oder postreduziert wurden. Zwei der 6 Typen verdanken ihre Entstehung einer Präreduktion, 4 einer Postreduktion.

Ein 2. Allelenpaar kann auf jeden dieser 6 Typen wieder in 6facher Weise verteilt werden, so daß sich also die Zahl der Typen mit jedem weiteren Allelenpaar versechsfacht, also 6^n beträgt. Entsprechend dem oben Gesagten geht die Verteilung der beiden Allele jedes weiteren Locus in $^1/_3$ der Fälle auf Prä-, in $^2/_3$ der Fälle auf Postreduktion zurück.

Bei Tetraden, bei denen keine Lagebeziehung zwischen den 4 Sporen vorliegt (Tetraeder-Anordnung), erhält man eine weit geringere Zahl von Tetradentypen. So ergibt sich bei *einem*

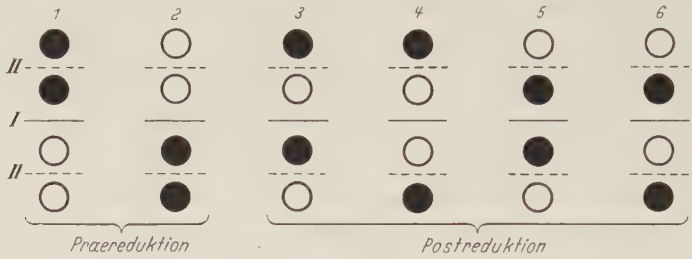


Abb. 3. Die 6 Möglichkeiten der Verteilung eines heterozygoten Locus auf die 4 Gonen.

Allelenpaar a—A statt der 6 Typen bei geordneten Tetraden nur ein einziger Typ, nämlich 2 Sporen mit a und 2 Sporen mit A. Bei 2 Allelenpaaren treten 3 verschiedene Tetradentypen auf: 2 Zweiertypen und 1 Vierertyp (s. Tabelle 4, Spalte 2). Aus den beiden Zweiertypen lassen sich bei Hinzutreten eines 3. Allelenpaares wiederum je 3 Typen ableiten, je 2 Zweiertypen und 1 Vierertyp. Bei dem Vierertyp dagegen sind 6 Arten der Verteilung möglich, und es ergeben sich daraus 2 Zweier- und 4 Vierertypen für das neue Merkmal in bezug zu jedem der schon vorhandenen (s. Tabelle 4, Spalte 3). Im ganzen sind also bei 3 heterozygoten Loci 12 Tetradentypen möglich. Hiervon sind, wenn man je 2 Merkmale miteinander betrachtet, je 6 Zweier- und 6 Vierertypen. So sind z. B. für die Kombination a—A und b—B die ersten 6 Typen der Spalte 3 Zweier-, die letzten 6 Vierertypen. Da sich bei Hinzutreten eines weiteren heterozygoten Locus von jedem dieser Vierertypen 6 neue Typen ableiten lassen, die natürlich auch alle für die Kombination von a—A und b—B Vierertypen sind, so steigt die Zahl der Vierertypen für diese beiden Merkmale mit jedem weiteren Merkmalsunterschied um das 6fache. Sie beträgt bei 3 heterozygoten Loci 6, bei n heterozygoten Loci demnach 6^{n-2}. Daß n um 2 vermindert werden muß, ist leicht verständlich, weil erst bei $n = 3$ Merkmalen 6, also 6^{n-2} verschiedene Vierertypen auftreten, während bei einem Merkmal natürlich noch kein Vierertyp und bei 2 Merkmalen nur 1 Vierertyp vorhanden ist. Für je 2 beliebige andere Merkmalspaare gilt ebenso 6^{n-2}. Die Zahl der Zweiertypen dagegen (das sind für a —A und b B die ersten 6 in Spalte 3) steigt ungleichmäßig an, da aus ihnen mit jedem weiteren heterozygoten Locus zum Teil 6, zum Teil nur 3 neue Typen abzuleiten sind.

Von den genannten 6 Zweiertypen für die Kombination a—A und b—B sind 4, nämlich die beiden ersten in jeder Gruppe, auch für c—C in bezug zu a—A und b—B Zweiertypen, d. h. es treten hinsichtlich *aller* Merkmale nur 2 Arten von Pflanzen auf. Von solchen absoluten Zweiertypen, deren Zahl sich mit jedem weiteren heterozygoten Locus verdoppelt und 2^{n-1} beträgt, leiten sich weiterhin bei Hinzutreten eines neuen heterozygoten Locus stets je 3 neue Typen ab, von allen andern Typen je 6. Nach Tabelle 4 errechnen sich für 4—6 Allelenpaare 60, 336 und 1968 Tetradentypen.

Wie lassen sich nun diese ungewöhnlichen Zahlen, die in keiner Beziehung zueinander zu stehen scheinen, auf eine gemeinsame Formel bringen?

Sobald die 4 Abkömmlinge einer Tetrade unterscheidbar sind, sei es nach der Lage (wie bei den Ascomyceten), sei es durch ihre genetische Konstitution (Vierertypen), gibt es für

Tabelle 4. *Ableitung der Anzahl der theoretisch möglichen Tetradentypen bei „nicht geordneten" Tetraden (Tetraeder-Typ) bei 1—6 heterozygoten Genpaaren.*

	Tetradentypen bei			Anzahl der Tetradentypen bei		
	1 Genpaar	2 Genpaaren	3 Genpaaren	4 Genpaaren	5 Genpaaren	6 Genpaaren
	aa AA	ab ab AB AB	abc abc ABC ABC	3	3+3+6=12	12+12+36= 60
			abC abC ABc ABc	3	3+3+6=12	12+12+36= 60
			abc abC ABc ABC	6	6×6 =36	36× 6 =216
		aB aB Ab Ab	aBc aBc AbC AbC	3	3+3+6=12	12+12+36= 60
			aBC aBC Abc Abc	3	3+3+6=12	12+12+36= 60
			aBc aBC Abc AbC	6	6×6 =36	36×6 =216
		ab aB Ab AB	abc aBc AbC ABC	6	6×6 =36	36×6 =216
			abC aBC Abc ABc	6	6×6 =36	36×6 =216
			abc aBC Abc ABC	6	6×6 =36	36×6 =216
			abc aBC AbC ABc	6	6×6 =36	36×6 =216
			abC aBc Abc ABC	6	6×6 =36	36×6 =216
			abC aBc AbC ABc	6	6×6 =36	36×6 =216
Summe	1	3	12	60	336	1968
Vierertypen in bezug auf 2 beliebige Merkmalspaare		1	6	36	216	1296
Zweiertypen in bezug auf dieselben 2 Merkmalspaare		2	6	24	120	672
Davon absolute Zweiertypen		2	4	8	16	32

ein neu hinzukommendes Allelenpaar 6 Möglichkeiten der Verteilung, und zwar ergeben je 2 davon Zweier- und je 4 Vierertypen mit jedem der schon vorhandenen Allelenpaare. Bei Zweiertypen des Tetraedertyps dagegen, bei denen je 2 Sporen einander gleichen, bestehen für ein weiteres Allelenpaar nur 3 Möglichkeiten der Verteilung, nämlich 2 Zweiertypen und nur 1 Vierertyp. Somit ergibt sich bei n Allelenpaaren für die Zweiertypen zweier beliebiger Allelenpaare stets das Doppelte der bei $n-1$ Allelenpaaren möglichen Gesamttypenzahl (vgl. Tabelle 4), für die Vierertypen das 4fache, vermindert um 3mal die Zahl der absoluten Zweiertypen bei $n-1$-Allelenpaaren, also um $3 \cdot 2^{n-2}$; denn aus diesen 2^{n-2}-Typen entsteht jeweils nur 1 Vierertyp anstatt deren 4. Die Versechsfachung der Gesamttypenzahl verringert sich also um jeweils $3 \cdot 2^{n-2}$, und zwar auf Kosten der Vierertypen.

Die Gesamtzahl der bei n Allelenpaaren möglichen Tetradentypen p_n beträgt also das 6fache der bei $n-1$ Allelenpaaren möglichen Zahl p_{n-1} vermindert um $3 \cdot 2^{n-2}$, oder als Formel:

$$p_n = 6 \cdot p_{n-1} - 3 \cdot 2^{n-2}.$$

Davon sind $2 \cdot p_{n-1}$ Zweier-, der Rest Vierertypen. Nun ist die Zahl der Vierertypen für je 2 beliebige Allelenpaare aber auch, wie oben gesagt, gleich 6^{n-2}. Um zu einer allgemeinen Formel zu kommen, ohne auf die Größe p_{n-1} zurückgreifen zu müssen, setzen wir nun in die obigen Werte für die Vierertypen 6^{n-2} ein. Dann ergibt sich für die Zweiertypen die Hälfte von $6^{n-2} + 3 \cdot 2^{n-2}$ und für die Gesamttypenzahl

$$p_n = 6^{n-2} + \frac{6^{n-2} + 3 \cdot 2^{n-2}}{2} = 3/2 \cdot (6^{n-2} + 2^{n-2}).$$

Da die Zahl der absoluten Zweiertypen, die die Verminderung der Vierertypen verursachen, mit steigendem n anteilmäßig immer geringer wird, verschiebt sich das Verhältnis der Vierer- zu den Zweiertypen immer stärker zugunsten der ersteren und nähert sich immer mehr dem Verhältnis 4:2, d. h. dem Verhältnis, in dem aus Vierertypen bezüglich eines weiteren Merkmals Vierer- und Zweiertypen entstehen, entsprechend dem bei geordneten Tetraden gegebenen

Verhältnis von Post- und Präreduktionstypen (s. Abb. 3). Dieses Verhältnis wird aber nie ganz erreicht.

Die Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Typen hängt von der Lage in den Chromosomen und von den Lagebeziehungen der in Frage stehenden Loci untereinander ab.

Bei *Sphaerocarpus* haben wir tetraedrische Tetraden, bei denen jede Spore zu den übrigen Sporen in gleicher Lagebeziehung steht. Bei der von uns durchgeführten Kreuzung handelte es sich um 4 Merkmalspaare, nämlich um den durch den X-Y-Chromosomenmechanismus bedingten Geschlechtsunterschied und um die durch die 3 heterozygoten Loci *s*, *c* und *a* eines Autosoms bedingten Merkmalsunterschiede. Dementsprechend haben wir es also mit $p = \frac{3}{2} \cdot (6^{4-2} + 2^{4-2}) = 60$ theoretisch möglichen Tetradentypen zu tun, davon für je 2 Merkmalspaare 24 Zweier- und 36 Vierertypen. Eines der 4 Merkmalspaare, nämlich der Geschlechtsunterschied, wird nach unserer bisherigen Kenntnis bei *Sphaerocarpus* stets präreduktionell verteilt. Von den 60 verschiedenen theoretisch möglichen Tetradentypen müssen also für jedes der 3 anderen Merkmalspaare jeweils 24 ihre Entstehung ebenfalls einer präreduktionellen Verteilung verdanken, 36 einer postreduktionellen.

Zusammenfassung.

1. Für die *squamifera*-Koppelungsgruppe von *Sphaerocarpus* wurden die beiden neuen Loci *c (crispa)* und *a (atra)* auf Grund der Austauschhäufigkeiten zwischen *s (squamifera)*, *c* und *a* lokalisiert.

2. Die mit Hilfe der genetischen Tetradenanalyse bestimmte Häufigkeit der Postreduktionen dieser Loci stimmt wieder mit der Annahme überein, daß die Postreduktionen der einzelnen Loci sich aus einem Austausch im Vierstrangstadium zwischen dem Centromer und dem betreffenden Locus ergeben.

3. In dem untersuchten, 16—17 Morgan-Einheiten umfassenden Chromosomenabschnitt konnten bis zu 2 gleichzeitige Austausche nachgewiesen werden. In Übereinstimmung mit früheren Befunden konnte eine genetische Interferenz zwischen 2 auf derselben Seite des Centromers gelegenen Crossing-overs wahrscheinlich gemacht werden. Zwischen zwei auf verschiedenen Armen des Chromosoms gelegenen Crossing-overs scheint keine Interferenz wirksam zu sein.

4. Es wurde gezeigt, wie durch die tetradenanalytische Auswertung Doppelbrüche zwischen dem Centromer und einem Locus, ohne Unterteilung der Strecke durch einen weiteren Locus, nachgewiesen werden können, die Frage einer Interferenz also auch geprüft werden kann, ohne daß 3 Loci vorliegen müßten.

5. Unsere Befunde stimmen mit der Annahme überein, daß bei Doppelaustausch der 1. Austausch keinen Einfluß darauf ausübt, welche 2 der 4 Chromatiden sich an dem 2. Austausch beteiligen (Fehlen einer Chromatiden-Interferenz).

6. In einem Anhang wird die Zahl der theoretisch möglichen Tetradentypen bei *n* unterscheidenden Merkmalen ohne Lagebeziehung der Sporen zueinander (Tetraedertyp) abgeleitet.

Literatur.

Knapp, E.: Untersuchungen über die Wirkung von Röntgenstrahlen an dem Lebermoos *Sphaerocarpus* mit Hilfe der Tetradenanalyse. Z. Vererbungslehre **70**, 309—349 (1935). — Zur Genetik von *Sphaerocarpus* (Tetradenanalytische Untersuchungen). Ber. dtsch. bot. Ges. **54**, (58)—(69) (1936). — Crossing-over und Chromosomenreduktion. Z. Vererbungslehre **73**, 409—418 (1937). — Lorbeer, G.: Die Zytologie der Lebermoose mit besonderer Berücksichtigung allgemeiner Chromosomenfragen. I. Teil. Jb. wiss. Bot. **80**, 567—817 (1934).

Prof. Dr. E. Knapp,
Zweigstelle Rosenhof des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung,
Ladenburg b. Heidelberg.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 87, S. 311 - 334 (1955).

Aus dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung Berlin-Dahlem
(Direktor: Prof. Dr. H. Kappert).

ÜBER DIE WIRKUNG VON BLÜTENFARBGENEN BEI CYCLAMEN.

Von

Wilhelm Seyffert.

(Eingegangen am 4. Juli 1955.)

A. Einleitung.

Seitdem Wheldale und Basset (1914) erstmals an *Antirrhinum majus* den Zusammenhang zwischen Gen und Blütenfarbstoff studierten, sind zahlreiche ähnliche Arbeiten an anderen Blütenpflanzen durchgeführt worden. Sie wurden durch die Konstitutionsaufklärung der Anthocyane und verwandter Verbindungen — in erster Linie durch Willstätter, Karrer und Robinson — und durch die Entwicklung einfacher Erkennungsmethoden durch die Robinsons (1931—1934) sehr gefördert und haben erheblich dazu beigetragen, unsere Kenntnisse über die Wirkung von Blütenfarbgenen zu erweitern. 1939 hat Scott-Moncrieff eine umfassende Darstellung der bis zu diesem Zeitpunkt durchgeführten wichtigsten Arbeiten gegeben. Seither haben sich vor allem Beale (1940, 1941), Douwes (1943), Mehlquist und Geissman (1947) und Stephens (1948) mit Fragen der biochemischen Wirkung von Blütenfarbgenen befaßt. Bei weitem die größte Aufmerksamkeit wurde dabei den genetisch bedingten Strukturänderungen der einer Untersuchung leichter zugänglichen Anthocyanpigmente gewidmet, während nur wenig über entsprechende genabhängige Strukturunterschiede bei Flavonen und Flavonolen bekannt geworden ist. Aus allen erwähnten Arbeiten geht hervor, daß bestimmte einfache Differenzen im Molekülbau der Blütenfarbstoffe stets auf die Aktivität einzelner Gene zurückgeführt werden können. Eine von Scott-Moncrieff (1936), S. 160, 161, gegebene zusammenfassende Übersicht über die mögliche Wirkung von Blütenfarbgenen veranschaulicht das sehr einprägsam.

Beim Studium der Vererbung der Blütenfarben bei Cyclamen (Seyffert 1955) ergab sich die Notwendigkeit, eine große Zahl zum Teil einander sehr ähnlicher Farbtypen, die durch die Verwendung von Farbtafeln nicht hinreichend genau klassifiziert werden konnten, mit Hilfe der Papierchromatographie zu untersuchen. Dadurch war es nicht nur möglich, die verschiedenen Phänotypen exakt zu klassifizieren, sondern darüber hinaus eine Aussage über die Zahl und Art der in jedem Phänotyp vorhandenen Pigmente zu erhalten. Durch die Untersuchung jeder einzelnen Pflanze einer Nachkommenschaft konnten Fehlbonitierungen ausgeschaltet und die Aufspaltung der in den Pigmentfaktoren heterozygoten Elterpflanzen mit Hilfe der Chromatogramme einwandfrei ermittelt werden.

An der Ausbildung der Blütenfarben bei Cyclamen sind 7 verschiedene Faktoren beteiligt, aus deren Zusammenwirken die 31 nachfolgend aufgeführten Phänotypen entstehen können (Tabelle 1). In diesem, alle Faktorenkombinationen enthaltenden Schema ist der Genotyp eines der rechts stehenden Phänotypen

mit Hilfe der waagerecht und senkrecht laufenden Linien von der linken oberen Ecke ausgehend zu ermitteln, wobei eine senkrechte Linie den Übergang vom dominanten zum rezessiven Allel des Locus anzeigt, in dem sie beginnt. Dicht nebeneinander laufende Linien lassen erkennen, daß das dominante Allel eines Allelenpaares gegenüber dem rezessiven keine phänotypisch unterscheidbare Wirkung ausübt, daß also keine unabhängige Genwirkung mehr vorliegt.

An erster Stelle sind die Grundfaktoren *W* und *F* angeführt. Das von Wellensiek bereits festgestellte Gen *W* wirkt als Farbfaktor, der die Bildung blauroter Pigmente kontrolliert und rezessiv zu reinweißen Blüten führt. Unabhängig davon ist das dominante Allel *F* für die Entstehung schwach gelblicher Pigmente verantwortlich, die in Blüten mit dem rezessiven Allel fehlen. Treten blaurote und schwach gelbliche Pigmente gleichzeitig in einer Blüte auf, ist ein mehr oder minder starker Co-Pigmenteffekt[1] zu beobachten, der aber nur im oberen Teil der Petalen zur Auswirkung kommt. Es entstehen dann Phänotypen mit einem Basalfleck, dem „Auge", in dem ausschließlich blaurote, nicht aber die als Co-Pigmente wirkenden schwach gelblichen Pigmente vorhanden sind. Die durch diese Grundfaktoren ermöglichte Farbstoffbildung erfährt durch eine Reihe von Modifikatoren verschiedene Änderungen. So bestimmt der Modifikator *M* bei gleichzeitiger Gegenwart des Grundfaktors *W* den Grundfarbton der Cyclamenblüten: Unter der Einwirkung des rezessiven Allels entstehen rote, unter der des dominanten purpur gefärbte Blüten. Das dominante Allel des Faktors *C* wirkt leicht aufhellend und „verblauend". Sein Einfluß ist sowohl bei rotem als auch bei purpurfarbigem Grundfarbton zu erkennen, er tritt bei lachsfarbigen Blüten besonders deutlich in Erscheinung. Der Intensivierungsfaktor *I* manifestiert sich phänotypisch, ebenso wie schon der Aufhellungsfaktor *C*, nur in Gegenwart des Grundfaktors *W*. Er verstärkt die Farbintensität roter und purpurfarbiger Blüten.

Eine Sonderstellung unter den Entwicklerfaktoren nimmt das Allelenpaar *S*/*s* ein, das sowohl als Entwickler des Grundfaktors *W* als auch des Grundfaktors *F* fungieren kann. Wellensiek beschreibt 1950 seine Wirkung als die eines dominanten Hemmungsfaktors. Dies trifft aber nur unter der Voraussetzung zu, daß sowohl das dominante Allel des Grundfaktors *W* als auch des Grundfaktors *F* im Genotyp enthalten sind. Es entsteht dann die Form „Weiß mit Auge". In Gegenwart des rezessiven *f*-Allels kann eine hemmende Wirkung des *S*-Allels dagegen nicht mehr beobachtet werden, in diesem Fall werden lachsfarbige Petalen gebildet. Wie aus dem genetischen Experiment (Seyffert 1955, S. 283) hervorgeht, ist dazu aber mit großer Wahrscheinlichkeit noch die gleichzeitige Gegenwart des Intensivierungsfaktors *I* erforderlich.

Im Genotyp *wwFF* übt weder das dominante noch das rezessive Allel im *S*-Locus eine phänotypisch erkennbare Wirkung aus.

Als letzter Faktor ist schließlich das Gen *E* zu nennen, das nur in Gegenwart des Grundfaktors *F* wirkt und dessen dominantes Allel die Bildung cremefarbiger, dessen rezessives die Bildung etwas dunklerer, elfenbeinfarbiger Phänotypen bedingt.

[1] Als Co-Pigmenteffekt wird die durch Flavone, Flavonole, Tannine u. a. Pigmente hervorgerufene Aufhellung einer durch Anthocyane gefärbten Petale bezeichnet.

Tabelle 1. *Übersicht über die Geno- und Phänotypen hemiploider Cyclamen.*

W	*F*	*M*	*C*	*I*	*S*	*E*	fast weiß mit purpur Auge
					s	*E*	dunkelrotblau
				i	*S*	*E*	weiß mit purpur Auge
					s	*E*	rotblau, hell
			c	*I*	*S*	*E*	fast weiß mit tiefpurpur Auge
					s	*E*	dunkelrotblau
				i	*S*	*E*	weiß mit tiefpurpur Auge
					s	*E*	rotblau
		m	*C*	*I*	*S*	*E*	fast weiß mit schwach purpurfarbigem Auge
					s	*E*	dunkelblaurot
				i	*S*	*E*	weiß mit schwach purpurfarbigem Auge
					s	*E*	blaurot, hell
			c	*I*	*S*	*E*	fast weiß mit rotem Auge
					s	*E*	dunkelblaurot
				i	*S*	*E*	weiß mit rotem Auge
					s	*E*	blaurot
	f	*M*	*C*	*I*	*S*	*E*	blaurosa
					s	*E*	tiefpurpur
				i	*S*	*E*	dunkelpurpur
			c	*I*	*S*	*E*	blaulachs
					s	*E*	tiefpurpur
				i	*S*	*E*	dunkelpurpur
		m	*C*	*I*	*S*	*E*	lachsrosa
					s	*E*	tiefrot
				i	*S*	*E*	dunkelrot
			c	*I*	*S*	*E*	lachsrot
					s	*E*	tiefrot
				i	*S*	*E*	dunkelrot
w	*F*	*M*	*C*	*I*	*S*	*E*	cremefarbig
						e	elfenbein
	f	*M*	*C*	*I*	*S*	*E*	reinweiß

In der vorliegenden Arbeit soll nun versucht werden, aus der Synthese der genetischen und der papierchromatographischen Analysen eine Aussage über die Wirkungsweise der Blütenfarbgene bei Cyclamen zu erhalten. Die Untersuchungen wurden an den bereits an anderer Stelle (SEYFFERT 1955) beschriebenen Nachkommenschaften der von KAPPERT artifiziell erzeugten hemiploiden *Cyclamen persicum* durchgeführt. Außerdem überließ uns Herr Dr. J. WASSCHER liebenswürdigerweise Saatgut der diploiden holländischen Sorten „Sylphide" und „zuiver wit", wofür wir sehr zu Dank verpflichtet sind.

B. Methode.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe der Papierchromatographie durchgeführt, die als einfaches und schnelles Verfahren zur Untersuchung kleinster Mengen unbekannter Substanzgemische, zu ihrer Trennung und Identifizierung besonders geeignet ist. Wie schon die ersten Vorversuche mit einer behelfsmäßigen Apparatur erkennen ließen, war selbst aus Teilen einer Einzelblüte noch ein brauchbares Chromatogramm zu erhalten.

Entsprechend den Anforderungen, die von BATE-SMITH und WESTALL (1950) an eine Apparatur für die Papierchromatographie gestellt werden, wurde eine dicht schließende Kammer für Reihenuntersuchungen konstruiert, in der bis zu 10 Bogen 30 × 30 cm wahlweise auf- oder absteigend chromatographiert werden können und in die die alkoholische Phase des Lösungsmittelgemisches ohne Störung des Dampfraumes eingeführt werden kann.

Als Lösungsmittelgemische wurden nach den Angaben von PARTRIDGE (1947), BATE-SMITH und WESTALL (1950), GAGE und WENDER (1950), CRAMER (1953) und von BATE-SMITH (1954) verwendet:

a) n-Butanol-Eisessig-Wasser	4 : 1 : 5	abgekürzt:	BE
b) m-Kresol-Eisessig-Wasser	25 : 1 : 24		KE
c) n-Butanol-2n-HCl	1 : 1		BH
d) Eisessig-konz. HCl-Wasser	30 : 3 : 10 = „Forestal solvent"		F
e) m-Kresol-5,5 n-HCl-Eisessig	1 : 1 :1		KH

In Übereinstimmung mit BATE-SMITH und WESTALL und im Widerspruch zu den Angaben WERCKMEISTERS (1952, 1954) erwiesen sich zur Trennung von Anthocyanen und Flavonolen nur BE und KE als geeignet. BH ergab für Anthocyane viel zu niedrige R_f-Werte und nur eine ungenügende Trennung nahe beieinander liegender Substanzflecke. Daher wurde dieses Gemisch lediglich zur Trennung der Anthocyanidine verwendet, zu der es sich ausschließlich eignet. Von den von der Fa. Schleicher & Schüll angebotenen Papieren wurde Nr. 2043 a Gl für Reihenuntersuchungen verwendet, das mit einer mittleren Laufzeit etwa dem „Whatman No. 1", auf das die meisten in der Literatur angeführten Werte bezogen sind, entspricht. Papiere mit maschinenglatter Oberfläche (MGl) zeigten im UV-Licht eine stark bläuliche Eigenfluoreszenz und erschwerten dadurch sehr den Nachweis solcher Verbindungen, die nur an ihrer blauen oder violetten Fluoreszenzfarbe erkannt werden können.

Die Extraktion der Blütenfarbstoffe wurde ohne jede Vorbehandlung der Blüten nach Zerreiben in der Reibschale mit wenigen Tropfen 0,1 n-HCl je Blüte vorgenommen. Eine Einengung der Extrakte erwies sich bei sorgfältiger Bereitung als überflüssig. Lediglich bei Blüten, bei denen eine Anthocyanbildung nur in der Zone des Basalflecks beobachtet wurde, mußten der Basalfleck und die anthocyanfreie Petale getrennt verarbeitet werden, um eine zu starke Konzentrationsminderung des Anthocyans durch den relativ großen Anteil ungefärbten Zellsaftes zu verhindern. Je nach Konzentration der Extrakte wurden 2—4 mm^3 mit einer Mikropipette aufgenommen und auf das Papier auf die vorgezeichnete „Startlinie" mit einem Abstand von 2 cm von Punkt zu Punkt und 3 cm vom Rand entfernt (aufsteigende Methode) aufgetragen. Die vorerwähnte Kammer wurde in einem thermokonstanten Raum bei $17 \pm 1{,}0^0$ C aufgestellt und die vorbereiteten Papierbogen so in die Kammer eingehängt, daß sie mit dem unteren Rand in zur Verminderung des Lösungsmittelbedarfs dreieckig gehaltenen Trögen standen. Wenn die Papiere nach 24 Std mit der im Boden der Kammer befindlichen wäßrigen Phase des Lösungsmittelgemisches gesättigt waren, wurde die alkoholische Phase durch Einfüllstutzen in die Tröge eingelassen, worauf sie in der Regel innerhalb von 12 Std bis kurz unter den oberen Rand der Papiere aufstieg. Die Bogen wurden

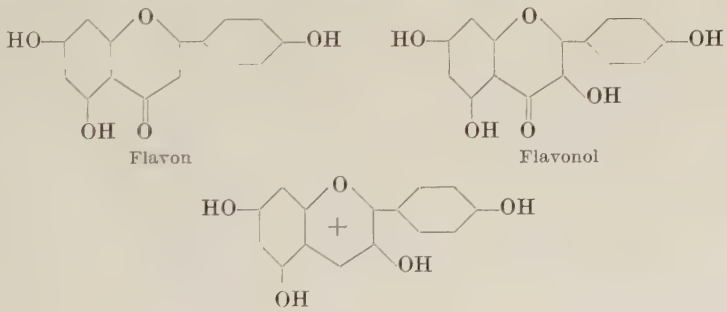
herausgenommen, getrocknet und die Position der beim Aufsteigen der alkoholischen Phase unterschiedlich weit mitgenommenen und dadurch getrennten Substanzen im Tages- und UV-Licht[1], in normaler und in Ammoniakatmosphäre sowie nach Behandlung mit verschiedenen färbenden Reagenzien festgelegt und ihre spezifische Färbung beobachtet. Unbekannte Verbindungen wurden, soweit verfügbar, mit authentischen Proben aus anderen Blütenpflanzen verglichen und ihre R_f-Werte, die Quotienten aus dem Wanderungsweg einer Substanz und dem der Lösungsmittelfront, mit Hilfe eines R_f-Wertschlüssels (Cramer 1953) ermittelt. Alle folgenden R_f-Werte gelten, sofern nicht besonders vermerkt, für:

a) das Lösungsmittelgemisch BE (n-Butanol-Eisessig-Wasser);
b) das Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043 a Gl;
c) eine Temperatur von $17 \pm 1{,}0^0$ C;
d) die Extraktion einer Blüte mit wenigen Tropfen 0,1 n-HCl;
e) die aufsteigende Methode.

Sie sind unter gleichen Bedingungen reproduzierbar.

C. Ergebnisse der chromatographischen Untersuchung.

Eine Voruntersuchung über die Art der Blütenfarbstoffe ergab, daß in Cyclamenblüten ausschließlich saftlösliche Pigmente enthalten sind, so daß Plastidenfarbstoffe von vornherein aus einer Betrachtung ausscheiden. Die meisten dieser saftlöslichen Pigmente sind chemisch nahe verwandt, sie lassen sich auf ein gemeinsames Grundgerüst, das *Flavan*, zurückführen. Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wie Anthocyanen, Flavonen, Flavonolen, Leukoanthocyanen usw. sind durch das Oxydationsstadium des aliphatischen C_3-Fragmentes, das die beiden Benzolkerne des Flavangerüstes verbindet, bedingt, während die Variation innerhalb dieser Gruppen in erster Linie durch Unterschiede in der Art und Zahl der Substituenten im Seitenphenylring hervorgerufen wird. Die vereinfachten Strukturformeln der drei wichtigsten Vertreter saftlöslicher Pigmente, der Anthocyanidine, Flavone und Flavonole sind in der folgenden Abbildung dargestellt (Schema 1).



Schema 1.

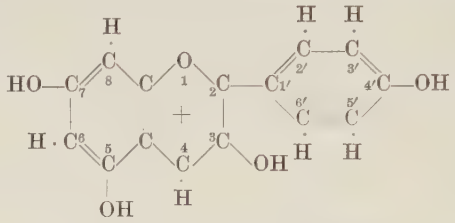
Zur Identifizierung von Anthocyanen wurden von Robinson und Robinson (1931—1934) einfache Methoden entwickelt, die auf der Verteilung der Anthocyane zwischen verschiedenen Lösungsmitteln und auf spezifischen Farbreaktionen beruhen. Trotz aller Eleganz erfordern diese Methoden immer noch einen erheblichen Aufwand an Zeit und Material, der sich bei der Untersuchung aller Komponenten eines nur in begrenzter Menge vorhandenen Pigmentgemisches besonders nachteilig auswirkt. Genetisch-biochemische Analysen von Blüten-

[1] Als UV-Quelle diente eine Quarz-Analysenlampe Hanau Nr. PL 327.

farben fußten deshalb bisher selten auf der Untersuchung aller Pflanzen einer Nachkommenschaft. GEISSMAN und MEHLQUIST (1947) sehen darin mit Recht die Hauptursache für Irrtümer und Unsicherheiten, da in vielen Fällen lediglich bestimmte Phänotypen untersucht und die so erhaltenen Ergebnisse auf andere ähnlich gefärbte Typen übertragen worden sind. Erst die Entwicklung der Papierchromatographie durch CONSDEN, GORDON und MARTIN (1944) und ihre Anwendung auf die Untersuchung phenolischer und flavonoider Verbindungen durch BATE-SMITH und Mitarbeiter (1950) und andere schuf die Voraussetzungen, die letztgenannten Schwierigkeiten zu umgehen.

I. Untersuchung anthocyanhaltiger Blüten.

Anthocyane sind Glykoside des 2-Phenylbenzopyryliums (Flavylium). Sie können in vivo mit organischen Säureresten oder mit Anionen echte Salze bilden und sind in vitro durch Hydrolyse in ihre Aglykone, die Anthocyanidine, zu überführen. Das Grundskelet eines Anthocyanidins (Pelargonidin) hat die folgende Struktur (Schema 2).



Anthocyanidinmolekül (Pelargonidin)
Schema 2.

Durch Oxydation, Methylierung oder Methoxylierung in der 3′-, 5′- oder 7-Stellung entstehen alle natürlich vorkommenden Anthocyanidintypen, durch Anlagerung von Zuckermolekülen in der 3-, oder 3- und 5-Stellung aus diesen die Anthocyane (vgl. z. B. GEISSMAN und HINREINER 1952). Aus der Kombination der Variationsmöglichkeiten, der Substitution im Seitenphenylring einerseits und der Glykosidstufe andererseits, resultieren die mannigfaltigen Erscheinungsformen der Anthocyane, deren Farbwerte sich vom hellen Rot bis zum tiefen Blau erstrecken. Es gilt nach SCOTT-MONCRIEFF (1939) als allgemeine Regel, daß sowohl eine Oxydation wie auch die Anlagerung eines Zuckermoleküls eine Zunahme, eine Methylierung dagegen eine Abnahme des Blauwertes zur Folge haben. Entsprechend verändern sich auch die Löslichkeitsverhältnisse: Ein Hexaoxyflavylium, Diglykosid oder ein unmethyliertes Anthocyan sind wasserlöslicher als ein Pentaoxyflavylium, ein Pentoseglykosid oder Monomethoxyflavylium und jene sind wiederum löslicher als ein Tetraoxyflavylium, ein Monoglykosid oder ein Dimethoxyflavylium. Dieses regelgemäße Verhalten ist die Voraussetzung für die Anwendung der Papierchromatographie. Von BATE-SMITH und WESTALL wurde 1950 überzeugend nachgewiesen, daß bestimmte Substitutionen im Flavangerüst spezifische und vorausberechenbare Änderungen des R_f-Wertes zur Folge haben.

1. Bildung einer Anthocyangrundfarbe. Wie die Auswertung mehrerer tausend Chromatogramme mit aller Deutlichkeit erkennen ließ, enthalten Pflanzen mit dem dominanten Allel des Grundfaktors *W Anthocyane*, deren Art, Zahl und

Verteilung in der Petale durch die Entwicklerfaktoren *M*, *C*, *I* und *S* modifiziert wird. Ein bestimmter Anthocyanidintyp ist aber ständig in allen anthocyanhaltigen Blüten zu beobachten. Er kann sowohl allein als auch mit anderen Anthocyanen gemeinsam auftreten. Dunkelpurpur *(WMcis)* und dunkelrote *(Wmcis)* Blüten, in denen ausschließlich jener ständig vorhandene Anthocyanidintyp auftritt, wurden der Hydrolyse unterworfen und auf die Art dieses Anthocyanidins untersucht.

Hierzu wurde mit 1% HCl extrahiert, der Extrakt zur Entfernung von Flavonen oder Flavonolen mit Äthylacetat (Essigsäureäthylester) geschüttelt, die wäßrige Phase mit konz. HCl versehen, im Wasserbad 8 min zum Sieden erhitzt, abgekühlt, filtriert und die so erhaltenen Anthocyanidine aus dem Filtrat mit einer kleinen Menge Isoamylalkohol aufgenommen. Die stark mit Anthocyanidinen angereicherte Isoamylalkoholphase wurde mit einer Mikropipette direkt auf die Startlinie des Chromatogrammbogens aufgesetzt. Bei zu geringer Konzentration des Hydrolysats wurden die Anthocyanidine auf dem Papier durch mehrfaches Auftupfen mit nachfolgendem Eintrocknen angereichert.

Die Chromatogramme wurden in BH, KE und F aufsteigend entwickelt und ergaben R_f-Werte von 0, 48, bzw. 0,90 und 0,55, die denen von Bate-Smith (1954) für Malvidin angegebenen (0,53, 0,90 und 0,60) sehr nahe kommen. Hydrolysierte Extrakte aus Blüten von *Epilobium hirsutum* und *Fuchsia hybr.*, die nach Robinson und Robinson (1931) Malvidinglykoside enthalten, ergaben identische R_f-Werte und gleichfarbige Substanzflecke, so daß an der Identität des untersuchten Anthocyanidins mit Malvidin, einem 3,4′,5,7-Tetraoxy-3′,5′-dimethoxyflavylium, kein Zweifel besteht. Malvidinderivate kommen in allen anthocyanhaltigen Cyclamenblüten zumindest im Basalfleck vor. Andere Anthocyane können offenbar nur dann entstehen, wenn bereits Malvidinderivate vorhanden sind. Eine ausschließlich durch Malvidinglykoside gefärbte Blüte ist durch die für dunkelrot bzw. dunkelpurpur angegebenen Farbtafelwerte (Seyffert 1955, Tabelle 1) charakterisiert. Die Sorte Sylphide enthält neben einigen Flavonolen nur reine Malvidinderivate.

2. Modifikation des Glykosidcharakters. Der chromatographische Vergleich von dunkelpurpur und dunkelroten Blüten, in denen nur Malvidinderivate enthalten sind, zeigte, daß das Anthocyan in Blüten mit einem purpur Grundfarbton einen sehr viel niedrigeren R_f-Wert hat als das aus roten Blüten stammende. Zur Identifizierung der Anthocyane wurden authentische Proben von Malvidin-3,5-diglykosiden, die nach Robinson und Robinson (1931) in den Blüten violett blühender *Clarkia elegans*, *Epilobium hirsutum* und *Fuchsia hybr.* enthalten sind, von Malvidin-3-pentoseglykosiden, nach Beale und Mitarbeitern (1941) in Blüten von *Trifolium pratense* und von *Tolmiea Menziesii* sowie von Malvidin-3-monoglykosiden aus Beeren von *Ampelopsis quinquefolia* (nach Geissman und Hinreiner 1952) mit den Malvidinderivaten der Cyclamenblüten verglichen. Dabei wurde eine gute Übereinstimmung zwischen dem R_f-Wert des Anthocyans aus purpurfarbigen Cyclamenblüten und dem der Malvidin-3,5-diglykoside gefunden. Das Anthocyan der roten Blüten ist mit Malvidin-3-pentoseglykosid identisch, während der R_f-Wert des Malvidin-3-monoglykosids noch etwas über dem des Pentoseglykosids lag (Tabelle 2).

Der Glykosidcharakter der Anthocyane wurde außerdem mit Hilfe der von Robinson und Robinson (1932) entwickelten Methode, die auf der Verteilung gereinigter Anthocyane zwischen wäßriger HCl und Isoamylalkohol beruht, geprüft.

Die Blüten wurden in der Reibschale zerrieben, mit reichlich 1% HCl extrahiert, der Extrakt filtriert und das Filtrat zur Entfernung aller Begleitstoffe, vor allem der Flavone und Flavonole, mehrfach gründlich mit Äthylacetat durchgewaschen. Die so gereinigten Lösungen wurden mit Isoamylalkohol versehen und die Verteilung der Anthocyane zwischen den beiden Phasen ohne besondere Behandlung, nach Zugabe von Wasser und nach Zugabe gesättigter NaCl-Lösung beobachtet.

Die Analyse des nach dem Chromatogramm als Diglykosid angesprochenen Anthocyans führte zu dem gleichen Ergebnis wie die chromatographische Untersuchung. Es zeigte das für Diglykoside typische Verhalten, d. h. es ging nach keiner der oben erwähnten Behandlungen in die Isoamylalkoholphase über. Die Prüfung des Anthocyans aus dunkelroten Blüten ergab eine deutliche Färbung der Isoamylalkoholphase, die nach Zusatz von Wasser merklich zurückging. Nach Zugabe gesättigter NaCl-Lösung ging das Anthocyan fast quantitativ in die Isoamylalkoholphase über. Das ist der Nachweis für Pentoseglykoside, die in der 3-Stellung sowohl einen Glukose- als auch einen Pentoserest enthalten.

Aus diesen Beobachtungen muß geschlossen werden, daß die durch den Modifikator *M* bedingte Änderung des Grundfarbtones der Blüten durch die Modifizierung der Glykosidstruktur der Anthocyane hervorgerufen wird. *In Gegenwart des dominanten Allels M entstehen dunkelpurpur Blüten mit Malvidin-3,5-diglykosid (Malvin), in Gegenwart des rezessiven Allels m dunkelrote Blüten mit Malvidin-3-pentoseglykosid.*

3. Ausbildung spezifischer Anthocyane. Neben den Glykosiden des Anthocyanidins Malvidin wurden in mehreren Farbtypen noch andere Anthocyanidinglykoside beobachtet, welche die Farbe der Petalen in ganz charakteristischer Weise beeinflussen.

Die Untersuchung tiefpurpur und tiefrot blühender Pflanzen, denen neben dem Grundfaktor *W* das dominante Allel des Intensivierungsfaktors *I* eigen ist, führte nach Hydrolyse der Blütenextrakte zum Nachweis des Anthocyanidins Delphinidin, einem 3,3′,4′,5,5′,7-Hexaoxyflavylium. Die in BH, KH und F gemessenen R_f-Werte von 0,32, 0,56 und 0,30 stimmen gut mit den von Bate-Smith (1954) für Delphinidin angeführten, 0,35, 0,52 und 0,30, sowie mit Delphinidinproben aus hydrolisierten *Delphinium*-Blütenextrakten überein. Der Vergleich der Anthocyane mit Delphinidin-3,5-diglykosiden, die nach Robinson und Robinson (1932) in *Cychorium intybus* und *Delphinium ssp.* enthalten sind, sowie mit Delphinidin-3-Pentoseglykosiden aus Blüten von *Cynoglossum officinale* (nach Beale und Mitarbeiter 1941 b) zeigte, daß das Delphinidinderivat aus tiefpurpur Blüten mit dem Diglykosid (Delphinin), das aus tiefroten Blüten mit dem Pentoseglykosid identisch ist. Die Anwendung des Robinsonschen Testes zur Prüfung der Glykosidnatur der aus dem Chromatogramm extrahierten Delphinidinglykoside bestätigte die Ergebnisse des chromatographischen Vergleichs. *Danach ist der Faktor I für die Bildung des Anthocyanidins Delphinidin verantwortlich*, während die Art der angelagerten Zuckermoleküle, ebenso wie schon bei der Bildung der Malvidinglykoside, durch den Modifikator *M* bestimmt wird. Delphinidinglykoside treten nur in Verbindung mit Malvidinglykosiden auf, ihre Konzentration ist geringer als die der Malvidinglykoside.

Alle Pflanzen mit dem dominanten Allel des Grundfaktors *W* und des Aufhellungsfaktors *C* führen neben Malvidinglykosiden geringe Mengen eines Anthocyans, das nach der papierchromatographischen Analyse der hydrolysierten Blütenextrakte als Glykosid des Cyanidins, eines 3,3′,4′,5,7-Pentaoxyflavyliums,

angesprochen wurde. Die Übereinstimmung der in BH, KH und F gemessenen R_f-Werte von 0,65, 0,72 und 0,48 mit den von Bate-Smith (1954) für Cyanidin in den 3 Lösungsmittelgemischen erhaltenen von 0,69, 0,69 und 0,50 ist offensichtlich. Der chromatographische Vergleich roher Blütenextrakte mit den nach Geissman und Hinreiner für blaue *Centaurea cyanus* und für *Rosa gallica* typischen Cyanidin-3,5-diglykosiden und mit Cyanidin-3-pentoseglykosiden, nach Beale und Mitarbeitern (1941b) in *Trifolium pratense* und *Prunus triloba* var. *fl. pl.* enthalten, zeigte, *daß in Blüten von WWMMCC-Pflanzen* neben dem ständig vorhandenen Malvin *Cyanin und in WWmmCC-Genotypen Cyanidin-3-pentoseglykoside enthalten sind.* Die Gegenwart der Cyanidinglykoside ist mit einer leichten Aufhellung der Petalen- und „Verblauung" der Basalfleckfarbe verbunden.

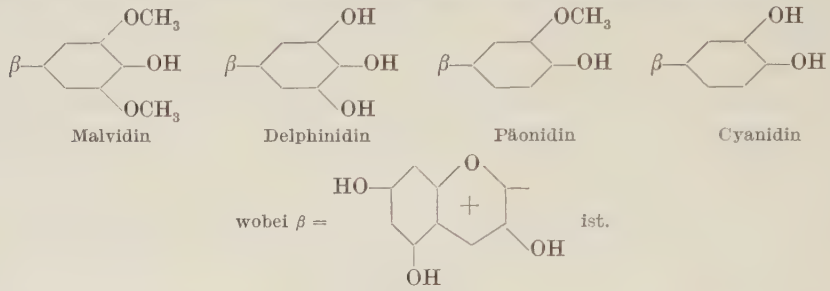
Die papierchromatographische Untersuchung hydrolysierter Blütenextrakte lachsfarbiger *WWMMIISS*- und *WWmmIISS*-Genotypen ergab in den Lösungsmittelgemischen BH, KH und F einen R_f-Wert von 0,70, 0,87 und von 0,62. Diese Werte kommen den von Bate-Smith für Päonidin, einem 3,4′,5,7-Tetraoxy-3′-methoxyflavylium, angegebenen von 0,72, 0,87 und entsprechend 0,63 sehr nahe. Durch den Vergleich mit Päonidin-3,5-diglykosiden, die nach Robinson und Robinson (1931) in den roten Sepalen blau und rot gefärbter *Fuchsia hybr.*, z. B. „Charming" und nach Geissman und Hinreiner in Blüten von *Paeonia arborea* enthalten sind, sowie mit Päonidin-3-pentoseglykosiden aus Blüten von *Trifolium pratense* (Beale und Mitarbeiter 1941b) und *Streptocarpus hybr.* (Lawrence und Mitarbeiter 1939) konnte das Anthocyan *blaulachsfarbiger (WMIS) Blüten als Päonin, das lachsroter (WmIS) als Päonidin-3-pentoseglykosid* identifiziert werden. Die Prüfung des Glykosidcharakters aus dem Chromatogramm extrahierter Anthocyane nach der Robinsonschen Methode bestätigte sowohl bei den Päonidinglykosiden als auch bei den zuvor erwähnten Cyanidinglykosiden die Ergebnisse der chromatographischen Analysen.

Eine getrennte Untersuchung des tiefpurpur bzw. tiefroten Basalflecks und der lachsfarbigen Spreiten führte zum Nachweis einer starken Malvidinglykosidkonzentration im Auge gegenüber einer schwachen in der Petale, während Päonidinglykoside ausschließlich in der Petale, niemals im Auge beobachtet wurden. Außerdem konnte durch die Reihenuntersuchung von Nachkommenschaften *WWIISs*-heterozygoter lachsfarbiger Elterpflanzen festgestellt werden, daß Delphinidin- und Päonidinglykoside niemals gemeinsam in einer Blüte auftreten. Tiefrote *WWIIss*-Pflanzen enthalten Malvidin- und Delphinidin-, lachsrote *WWIISS*-Pflanzen Malvidin- und Päonidinglykosid, das unter dem Einfluß des *S*-Allels offenbar an Stelle des Delphinidinglykosids entsteht. Dagegen schließen sich andere Anthocyane, wie Päonidin- und Cyanidin- oder Cyanidin- und Delphinidinglykosid nicht gegenseitig aus, sie wurden neben Malvidinglykosiden oft gemeinsam in einer Blüte beobachtet.

Die Angaben Werckmeisters (1952—1954), daß Cyanidinglykoside das färbende Prinzip lachsfarbiger Blüten seien, konnten nicht bestätigt werden. Vielmehr führte der sehr empfindliche Cyanidinnachweis, der auf einer intensiven Blaufärbung von Verbindungen mit einer Pyrogallol- oder Brenzkatechingruppierung, also mit zwei nicht substituierten (unverschlossenen) Hydroxylgruppen in der ortho-Stellung, nach Behandlung mit $FeCl_3$ beruht, zu dem folgenden Ergebnis: Nach Zugabe weniger Tropfen $FeCl_3$ zu dem mit Hilfe von Äthylacetat von Flavonen, Flavonolen oder anderen Begleitstoffen sorgfältig gereinigten

Blütenextrakten wurde bei lachsroten *(WIcS)* keine, bei lachsrosa *(WICS)* eine geringe, bei tiefroten *(WIcs)* und bei dunkelroten *(WICs)* Blüten eine kräftige Blaufärbung beobachtet. Daraus ist zu schließen, daß das färbende Prinzip lachsfarbiger Blüten keinesfalls ein Cyanidinderivat ist, da gerade die Pflanzen mit der kräftigsten Lachsfarbe eine negative Eisenchloridreaktion zeigen. Die schwache Reaktion bei lachsrosa Pflanzen deutet auf eine geringe Menge des nach dem Genotyp zu erwartenden Cyanidins, während die positive Reaktion bei tief- und dunkelroten Blüten im ersten Fall durch Delphinidin allein, im zweiten außerdem durch Cyanidin hervorgerufen wird.

Faßt man alle bisher erhaltenen Ergebnisse zusammen, so muß auf Grund der papierchromatographischen und chemischen Analysen bei den verschiedenen Farbtypen der Cyclamen auf die Anwesenheit der 3-Pentose- und 3,5-Diglykoside folgender Anthocyanidine geschlossen werden (Schema 3).



Schema 3.

Ein Teil dieser Ergebnisse wurde durch die erst später zugänglich gewordene Arbeit der ROBINSONS (1934) bestätigt. Sie fanden in Cyclamen der Sorte „Vulkan" mit tiefroten Blüten und in SUTTONS „Giant Crimson" ein Malvidin-3-monoglykosid, in der Sorte „Giant Mauve" ein Malvidin-3,5-diglykosid und in den scharlach- und lachsfarbigen Sorten SUTTONS „Firefly", „Giant Salmon Scarlet" und „Silverleaf Salmon" ein Päonidin-3-pentoseglykosid. In der folgenden Tabelle sind die für die oben dargestellten Anthocyanidine und ihre Glykoside unter den eingangs bereits genannten Bedingungen ermittelten R_f-Werte zusammen mit den von BATE-SMITH (1954) und von BATE-SMITH und WESTALL (1950) angegebenen aufgeführt.

Tabelle 2. *Vergleich der R_f-Werte von Anthocyanen und Anthocyanidinen.*

		Aglykone				Pentoseglykoside		Diglykoside	
		BH	F	KH	Farbe	BE	Farbe	BE	Farbe
Cyanidin . . .	a	0,69	0,50	0,69		(0,37)		0,15	
	b	0,65	0,48	0,72	malvenf.	0,32	magenta	0,28	purpur
Delphinidin . .	a	0,35	0,30	0,52		(0,16)		0,10	
	b	0,32	0,30	0,56	malvenf.	0,27	blau	0,17	reinblau
Päonidin . . .	a	0,72	0,63	0,87		(0,46)		0,26	
	b	0,70	0,62	0,87	rosa	0,49	rosarot	0,34	blaurosa
Malvidin . . .	a	0,53	0,60	0,90		(0,40)		0,22	
	b	0,48	0,55	0,90	malvenf.	0,42	magenta	0,30	purpur

a) Nach BATE-SMITH, b) gemessene Werte, diese von BATHE-SMITH und WESTALL angegebenen Werte beziehen sich auf 3-Monoglykoside, R_f-Werte für Pentoseglykoside sind uns nicht bekannt.

Ein Vergleich der R_f-Werte läßt erkennen, daß die für Anthocyane gemessenen Werte stets höher als die in der Literatur angegebenen liegen. Da die Größe eines R_f-Wertes nach Untersuchungen von Bate-Smith (1948) mit steigender Konzentration des Extraktionsmittels abnimmt, ist dies in erster Linie darauf zurückzuführen, daß nur wenige Tropfen 0,1n HCl zur Extraktion einer Blüte verwendet wurden. Als Maßstab für die Größe der Differenz ist nur der Unterschied zwischen den gemessenen und den in der Literatur angegebenen Werten der 3,5-Diglykoside brauchbar, da die R_f-Werte von Mono- und Pentoseglykosiden (s. S. 316) nicht direkt verglichen werden können.

II. Untersuchung flavonolhaltiger Blüten.

Die enge chemische Verwandtschaft der Flavone und Flavonole mit den Anthocyanen läßt erwarten, daß auch die Flavonverbindungen in ähnlicher Weise wie die Anthocyane getrennt und identifiziert werden können. In der Tat ist das auch der Fall. Ihre Position kann im Chromatogramm durch Behandlung mit Ammoniak in den meisten Fällen als kräftig gelb gefärbter Fleck sichtbar gemacht werden. Außerdem besitzen viele dieser Verbindungen eine charakteristische UV-Fluoreszenz, die sich oft in typischer Weise ändert, wenn die Substanzflecke in der Ammoniakatmosphäre beobachtet werden. Im Vergleich mit den Anthocyanen, bei denen die Oxydation oder Methylierung auf die 3′-, 5′- oder 7-Stellung, die Zuckeranlagerung auf die 3- oder 5-Stellung beschränkt war, ist die Zahl der Variationsmöglichkeiten bei Flavonen und Flavonolen dadurch wesentlich erhöht, daß Substituenten auch in der 2′-, 6- und 8-Stellung auftreten können und die Anlagerung von Zuckermolekülen nicht mehr auf die 3- und 5-Stellung beschränkt ist. Jedoch sind nur von einem kleinen Teil aus der großen Zahl der existierenden Flavone und Flavonole die R_f-Werte bekannt, so daß es in vielen Fällen nicht möglich ist, solche Verbindungen an Hand ihrer R_f-Werte zu identifizieren.

1. Grundlagen der Flavonolbildung. Die Untersuchung creme- und elfenbeinfarbiger Pflanzen, die das dominante Allel des Co-Pigmentfaktors *F* führen, mit Hilfe der Reduktionsmethode nach Klein (1932) ergab stets die für Flavonole typische Purpurfarbe, so daß daraus bereits geschlossen werden kann, daß in gelblichen Cyclamenblüten Flavonole vorhanden sind. Die Auswertung der Chromatogramme führte bei Pflanzen vom Genotyp *FFeess* zum Nachweis drei verschiedener gleichzeitig vorhandener Flavonole, deren Identifizierung jedoch wegen der großen Zahl bekannter Flavonole mit ähnlichen R_f-Werten und wegen der ähnlichen Farbreaktionen von Substanzen mit gleichen R_f-Werten sehr erschwert wurde.

Der außerordentlich niedrige R_f-Wert der einen, im Ammoniakdampf gelblich gefärbten Verbindung von 0,12 in BE und von 0,01 in KE ließ auf eine große Zahl von Hydroxylgruppen schließen, da diese nach Bate-Smith und Mitarbeiter (1950) und nach Bradfield und Mitarbeiter (1950) eine besonders starke Erniedrigung des R_f-Wertes verursachen. Der niedrigste bekannte R_f-Wert eines *Hexa*oxyflavons (Myricetin) liegt mit 0,43 (BE) und 0,05 (KE) noch weit über dem von 0,12 und 0,01, so daß anzunehmen ist, daß hier eine noch stärker oxydierte Verbindung vorliegt. Nach den von Klein, Bate-Smith und Westall und von Geissman und Hinreiner mitgeteilten Konstitutionsformeln sind nur die Flavonole Hibiscetin, ein 3,3′,4′,5,5′,7,8-Heptaoxyflavon und Nor-gardenin,

ein 3,3′,4′,5,5′,6,8-Heptaoxyflavon, noch stärker oxydiert. Den R_f-Werten des Nor-gardenins von 0,10 und 0,02 (Bate-Smith und Westtall, 1950) kommen die gemessenen sehr nahe, R_f-Werte des Hibiscetins sind nicht bekannt. Da jedoch nach Bate-Smith und Westall in erster Linie die Zahl und erst dann die Stellung der Substituenten die Größe eines R_f-Wertes bestimmt, kann auf Grund des R_f-Wertes allein nicht entschieden werden, welche der beiden Verbindungen vorliegt. Authentische Proben von Hibiscetin und Nor-gardenin standen zu einem Vergleich bisher nicht zur Verfügung, so daß noch keine absolute Gewißheit über die Natur der vorliegenden Verbindungen besteht. Für die Identifizierung der anderen in der Blüte beobachteten Flavonole mit dem R_f-Wert 0,56 und 0,71 liegen zunächst noch keine Anhaltspunkte vor.

Der Faktor F ist also für die Bildung von Flavonolen verantwortlich, die in anthocyanfreien Blüten eine leicht gelbliche Farbe, in anthocyanhaltigen eine aufgehellte (co-pigmentierte) Anthocyanfarbe erzeugen. Flavonole treten sowohl in creme- und elfenbeinfarbigen Blüten als auch in anthocyanhaltigen stets nur oberhalb des Basalflecks, nie im Auge selbst auf.

2. Ausbildung spezifischer Flavonole. Ähnlich wie bei der Bildung spezifischer Anthocyane wird auch bei der Flavonolbildung die durch den Grundfaktor erzeugte Zahl und Art der Pigmente durch Entwicklerfaktoren modifiziert. Auf Grund der papierchromatographischen Analyse von Selbstungsnachkommenschaften *E/e*-heterozygoter cremefarbiger Elterpflanzen konnte in *FFEE*-Genotypen ein zu den bisher beobachteten Flavonolen mit den R_f-Werten 0,12, 0,56 und 0,71 zusätzlich vorhandenes Flavonol (R_f 0,49) festgestellt werden, das den elfenbeinfarbigen *FFee*-Genotypen fehlt. Das dominante Allel des Faktors *E* ist demnach bei gleichzeitiger Gegenwart des Grundfaktors *F* für die Erzeugung dieses spezifischen Flavonols verantwortlich. Die Identifizierung dieser Verbindung war bisher nicht möglich, verschiedene Hinweise auf das Flavonol Myricetin sind noch nicht sicher genug.

Unabhängig von der Wirkung des Elfenbeinfaktors konnte in Pflanzen mit dem dominanten Allel des Grundfaktors *F* die Wirkung eines zweiten Allelenpaares *(S/s)* beobachtet werden. *S* ist in *WWFF*-Genotypen für die Hemmung der Anthocyanbildung in der Petale oberhalb des Basalflecks verantwortlich, während in anthocyanfreien, cremefarbigen *wwFFSS*- und *wwFFss*-Typen keine phänotypisch sichtbare Wirkung nachzuweisen ist. Die Untersuchung cremefarbiger *S*- und *ss*-Genotypen führte zur Beantwortung der Frage, ob die Hemmungswirkung des Faktors *S* auf eine papierchromatographisch nachweisbare Pigmentbildung zurückzuführen sei: In allen *wwFFSS*- und *WWFFSS*-Genotypen wurde ein neues Flavonol mit dem R_f-Wert 0,83 beobachtet, das in allen seinen Eigenheiten, dem R_f-Wert, der Ammoniakfärbung, der UV-Fluoreszenz in normaler und in Ammoniakatmosphäre, der Färbung nach Behandlung mit $FeCl_3$, ammoniakalischem Silbernitrat und mit $FeSO_4$, mit dem nach Klein (1932) und nach Geissman und Hinreiner (1952) in *Trifolium pratense*-Blüten enthaltenen Isorhamnetin, einem 3,4′,5,7-Tetraoxy-3′-methoxyflavon, übereinstimmt. Gleichzeitig war die als Hibiscetin oder Nor-gardenin angesprochene Verbindung nicht mehr nachweisbar und die Konzentration des Flavonols mit dem R_f-Wert 0,49 reduziert.

Ein R_f-Wert für Isorhamnetin ist in der Literatur nicht angegeben, jedoch ist ein Vergleich mit der isomeren Verbindung Rhamnetin auf Grund der oben

bereits erwähnten Regel, daß in erster Linie die Zahl der Substituenten den R_f-Wert bestimmt, durchaus möglich. Der R_f-Wert des Rhamnetins wird von WENDER und GAGE (1948) mit 0,87, von BATE-SMITH und WESTALL mit 0,76 angegeben, denen der gemessene Wert nahe kommt.

Der Nachweis des Isorhamnetins ermöglicht es, phänotypisch bisher nicht unterscheidbare cremefarbige *S*- und *ss*-Typen zu klassifizieren und ihr Verhalten in Kreuzungen mit blauroten *WWFFss*-Pflanzen vorauszusagen. Die papierchromatographische Untersuchung der Nachkommenschaften heterozygoter cremefarbiger isorhamnetinhaltiger *FFSs*-Elterpflanzen ließ bei 4 Nachkommenschaften eine klare 3:1-Spaltung von zusammengefaßt 28 isorhamnetinhaltigen zu 10 isorhamnetinfreien Phänotypen erkennen. Damit kann die von WELLENSIEK schon 1950 beobachtete 9:3:4-Spaltung von „weiß mit Auge" : „Sylphide" : „weiß" zu einer 9:3:3:1-Spaltung „weiß mit Auge" : „blaurot" : „creme" (isorhamnetinhaltig) : „creme" (isorhamnetinfrei) ergänzt werden.

III. Untersuchung reinweißer Blüten.

Im Chromatogramm der flavonol- und anthocyanfreien reinweißen Blüten sind im UV-Licht in der Ammoniakatmosphäre mehrere dunkelblau und grünlichblau fluoreszierende Verbindungen sichtbar, die nach ihrer Fluoreszenzfarbe und ihrem R_f-Wert als Phenole angesprochen werden könnten. Die für diese Verbindungen charakteristischen Farbreaktionen mit $FeCl_3$ und mit ammonikalischem $AgNO_3$ konnten jedoch nicht erhalten werden, nur nach Besprühen des Chromatogramms mit in 50% Äthanol gelöster diazotierter Sulfanylsäure (Pauly Reagens) und nachfolgender Behandlung mit Ammoniak wurde bei einer im UV-Licht blau fluoreszierenden Substanz mit einem R_f-Wert von 0,76 eine orangefarbige Reaktion erhalten, die nach EVANS und Mitarbeiter (1949) auf Phloroglucin schließen ließe.

Außerdem wurden im unteren Teil des Chromatogramms Substanzflecke beobachtet, die im UV-Licht nicht fluoreszierten aber nach Behandlung mit 2% $FeCl_3$ einerseits und mit ammoniakalischem $AgNO_3$ andererseits eine blaugraue Färbung mit dem R_f-Wert 0,20 und 0,31, bzw. eine kräftig braune (R_f 0,20) und eine schwache braune Farbreaktion (R_f 0,31 und 0,41) aufwiesen. Wurde nach einem von BATE-SMITH (1954) angegebenen Verfahren 2 g frische Substanz reinweißer Blüten mit 5 cm³ 2 n-HCl extrahiert, 20 min im Wasserbad zum Sieden erhitzt, die wäßrige Lösung filtriert, das Filtrat in einem engen Reagensglas mit wenig Isoamylalkohol geschüttelt und die dann rot gefärbte Alkoholphase mit einer Mikropipette auf den Chromatogrammbogen aufgetragen, so konnten in den Lösungsmittelgemischen BH, F und KH drei verschiedene Anthocyanidine: Delphinidin, Cyanidin und Malvidin[1] nachgewiesen werden. Es müssen demnach in reinweißen Blüten *Leukoanthocyane* vorhanden sein, deren Struktur der in farbigen Blüten als Glykoside enthaltenen Anthocyanidinen entspricht.

Leukoanthocyane konnten auch in anderen Blüten, vor allem in „weiß mit Auge"- und „fast weiß mit Auge"-Typen nachgewiesen werden. Es ist auffällig, daß Blüten mit einem starken Leukoanthocyangehalt nach Botrytisbefall eine besonders kräftige Rotfärbung der befallenen Stellen zeigen. In cremefarbigen (flavonolhaltigen) und intensiv gefärbten (anthocyanhaltigen) Blüten ist die Leukoanthocyankonzentration offensichtlich vermindert.

[1] In Spuren.

D. Diskussion.

I. Wirkung der Faktoren.

Genetisch bedingte Strukturunterschiede bei Anthocyanen sind schon vielfach untersucht worden, während nur wenig über entsprechende faktorielle Untersuchungen an Flavonverbindungen bekannt geworden ist. Wohl ist von genetisch kontrollierten Beziehungen zwischen verschieden strukturierten Flavonen und Flavonolen mehrfach berichtet worden, jedoch ist bei der Beurteilung solcher Versuchsergebnisse nach Geissman und Mehlquist (1947) stets Vorsicht geboten, weil sie nur auf der Untersuchung weniger flavon- oder flavonolhaltiger Blüten beruhen und die genannten Autoren nachweisen konnten, daß sowohl ähnlich gefärbte Blüten verschiedene als auch verschieden gefärbte Blüten gleiche Flavonverbindungen enthalten können. Es ist also nur mit Vorbehalt möglich, die aus der Analyse weniger Pflanzen gewonnenen Erkenntnisse als repräsentativ für einen Farbtyp anzusehen.

Wie die Versuchsergebnisse an Cyclamen zeigen, konnte durch die chromatographische Untersuchung jeder einzelnen Pflanze einer Nachkommenschaft eine sehr viel genauere und sichere Beurteilung eines Phänotyps erfolgen, als dies mit bloßem Auge möglich war und darüber hinaus die genbedingte Ausbildung spezifischer Anthocyan- und Flavonolstrukturen nachgewiesen werden.

1. Faktor W. Die genetische Kontrolle der Anthocyanbildung erfolgt bei den verschiedenen Objekten in sehr unterschiedlicher Weise. Während bei *Primula acaulis, Dahlia variabilis, Tropaeolum majus, Verbena hybr., Pharbitis nil* und bei *Callistephus sinensis* eine monogen bedingte Anthocyanbildung beobachtet wurde — sie kann durch spezifische Anthocyangene modifiziert werden — ist die Anthocyanbildung bei *Rudbeckia hirta, Cheiranthus cheiri, Lathyrus odoratus* und *Matthiola incana* von mehreren Komplementärfaktoren abhängig, deren spezifische Wirkung jedoch unbekannt ist. Die Abhängigkeit der Anthocyanbildung von der gleichzeitigen Gegenwart eines für die Flavon- oder Flavonolbildung spezifischen Gens konnte erst in wenigen Fällen, so von Wheldale (1914) an *Antirrhinum majus* und von Geissman und Mehlquist (1947) an *Dianthus caryophyllus,* nachgewiesen werden.

Die von Wellensiek (1950, 1952) an diploiden Cyclamen beobachtete monogen bedingte Anthocyanbildung konnte von uns in jeder Weise bestätigt werden. Das Gen *W* wirkt offensichtlich als Grundfaktor, da andere durch spezifische Entwicklerfaktoren erzeugte Anthocyane nur in Gegenwart dieses Faktors und nur neben den von ihm gebildeten Malvidinglykosiden entstehen können. Dieses Verhalten unterscheidet sich grundsätzlich von anderen Beispielen einer monogenen und durch spezifische Gene modifizierten Anthocyanbildung (z. B. Buxton 1932; Lawrence und Mitarbeiter 1935, 1939; Beale 1940; Wit 1936 u. a.) dadurch, daß in den genannten Fällen das durch das Grundgen gebildete Anthocyan durch das Modifikatorgen *quantitativ* in eine meist höher oxydierte oder methylierte Stufe umgewandelt wird. Da aber weder stärker oxydierte oder methylierte Anthocyane noch eine quantitative Umwandlung der Malvidinglykoside beobachtet werden konnte, ist anzunehmen, daß bei Cyclamen noch andere Anthocyane unabhängig vom und parallel zum Malvidin synthetisiert werden können.

2. Faktor F. Gene für die Erzeugung von Flavonverbindungen sind von Buxton (1932), de Winton und Haldane (1933), Beale und Mitarbeitern (1939),

Mehlquist und Geissman (1947), Stephens (1948) u. a. mehrfach nachgewiesen worden. Entsprechend den bei Cyclamen beobachteten Verhältnissen ist auch in den genannten Beispielen das dominante Allel für die Entstehung, das rezessive für die Nichtentstehung der Pigmente verantwortlich. Ohne Parallele ist bisher die Beobachtung, daß *F* als Grundfaktor anzusehen ist, der gleichzeitig die Bildung mehrerer Flavonole ermöglicht, deren Art und Zahl durch Entwicklerfaktoren modifiziert werden kann.

Nach Mehlquist und Geissman (1947) und Higawara (zit. nach Scott-Moncrieff 1936) ist die Gegenwart des Flavonolgens bei *Dianthus caryophylus* und *Pharbitis nil* die notwendige Voraussetzung für eine mögliche Anthocyanbildung. Die Beobachtungen an Cyclamen stimmen dagegen gut mit denen von Lawrence und Scott-Moncrieff (1935) an *Dahlia variabilis*, Buxton (1932) an *Primula acaulis* und von Beale und Mitarbeitern (1939) an *Lathyrus odoratus* überein, wonach Flavonole und Anthocyane durch in ihrer Wirkung voneinander unabhängige Gene gebildet werden können. Es muß also verschiedene Mechanismen bei der Erzeugung von Flavonolen und Anthocyanen geben, denn noch weitere ergeben sich einerseits aus den Beobachtungen von Scott-Moncrieff (1936) an *Papaver Rhoeas*, wonach die Konzentration von Anthocyanen und Flavonolen von der eines offenbar gemeinsamen Vorläufers abhängig ist und die Flavonolbildung durch das *rezessive* Allel eines Genpaares bedingt wird und andererseits bei *Lathyrus odoratus* sowohl für die Flavon- als auch Anthocyanbildung je 2 Komplementärgene mit noch unbekannter Wirkung erforderlich sind.

3. Faktor M. Der erste Nachweis einer genetisch bedingten Änderung der Glykosidstruktur konnte 1932 von Scott-Moncrieff an *Verbena hybr.* geführt werden. Seither sind noch andere Beispiele, so das von Wit (1936) an *Callistephus sinensis*, Lawrence und Mitarbeiter (1939) an *Streptocarpus hybr.* und das von Mehlquist und Geissman (1947) an *Dianthus caryophyllus* bekannt geworden, in denen stets monofaktorielle Unterschiede zwischen Mono- und Diglykosiden oder zwischen Pentose- und Diglykosiden beobachtet wurden.

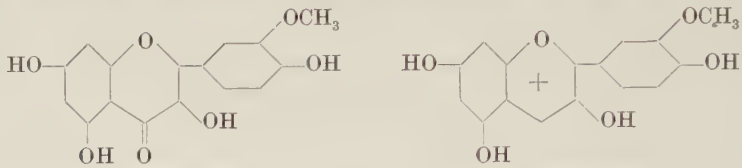
Auf Grund der chromatographischen, chemischen und genetischen Analysen konnte auch für Cyclamen der monogene und dominante Charakter der Diglykoside gegenüber den Pentoseglykosiden nachgewiesen werden. Sind mehrere Anthocyane in einer Blüte vorhanden, tritt der Wechsel der Glykosidnatur unter dem Einfluß des Faktors *M* bei allen Anthocyanen auf.

Zu dem gleichen Ergebnis kamen Lawrence und Mitarbeiter auf Grund ihrer Untersuchungen an *Streptocarpus*, bei denen ebenfalls ein Wechsel vom Pentose- zum Diglykosid bei allen in der Blüte enthaltenen Anthocyanen beobachtet werden konnte. Die Ausbildung der Flavonole wird durch den Faktor *M* nicht beeinflußt.

4. Faktor I. Die Beobachtung, daß in Gegenwart des dominanten Allels *I* neben dem vom Grundfaktor ausgebildeten Malvidinglykosid ein Delphinidinglykosid auftritt, während in *ii*-Genotypen nur Malvidinderivate nachweisbar sind, ist nur dadurch zu erklären, daß Delphinidin unabhängig von und parallel zu Malvidin gebildet wird. Ähnliche Beobachtungen über das gleichzeitige Vorkommen verschiedener Anthocyane in einer Blüte sind bei genetisch untersuchtem Material selten. Mischungen unmethylierter Pelargonidin-, Cyanidin- und Delphinidinglykoside sind noch nicht, methylierter und unmethylierter Anthocyane dagegen schon mehrfach in einer Blüte beobachtet worden, so von

LAWRENCE und Mitarbeitern (1939) bei *Streptocarpus*, von SCOTT-MONCRIEFF (1936) bei *Lathyrus* und neuerdings auch von DODDS und LONG (1955) bei *Solanum*-Arten.

5. *Faktor S.* WELLENSIEK (1950, 1952) beschreibt die Wirkung des dominanten Allels *S* als die eines Hemmungsfaktors, der aus der Sorte „Sylphide" die Form „weiß mit Auge" entstehen läßt. Die eigenen Untersuchungen bestätigen das und weisen darüber hinaus nach, daß der gleiche Faktor außerdem die Entstehung der Lachsfarben bedingt. Diese zwiefache Wirkung verdient besondere Aufmerksamkeit. Wie der Vergleich der Strukturformeln des unter seinem Einfluß gebildeten Flavonols Isorhamnetin und des Anthocyanidins Päonidin auf den ersten Blick erkennen läßt, besteht zwischen beiden Verbindungen eine weitgehende Homologie (Schema 4.) Im Zusammenhang mit der Tatsache, daß die



Isorhamnetin Päonidin

Schema 4.

Entstehung der Anthocyane und Flavonole durch voneinander unabhängige Grundfaktoren kontrolliert wird, ist daraus auf die Existenz einer beiden Verbindungen gemeinsamen spezifischen Vorläufersubstanz zu schließen, deren Charakteristik durch den Faktor *S* bestimmt wird. Da in Blüten von Pflanzen mit dem rezessiven Allel *s* Delphinidinglykoside, bzw. die als Hibiscetin oder Nor-gardenin angesprochene Verbindung beobachtet wurden, muß die durch das dominante Allel *S* hervorgerufene Modifikation des postulierten Vorläufers in der Methylierung einer OH-Gruppe in der 3′-Stellung einerseits und in der Reduktion einer Hydroxylgruppe in der 5′-Stellung andererseits bestehen. Das hieße zwei biochemisch sehr verschiedene Vorgänge auf die Aktivität eines einzigen Gens zurückzuführen. Diese Annahme wäre aber nach dem, was bisher über die Natur und Wirkungsweise der Gene bekannt ist, wenig wahrscheinlich. Viel eher wäre die Wirkung zweier eng gekoppelter Loci, für die Methylierung und für die Reduktion, zu verstehen. Falls nicht absolute Kopplung oder Pseudoallelie vorliegt, wären dann unter einer großen Zahl von Pflanzen auch Austauschtypen mit Anthocyanen und Flavonolen noch unbekannter Konstitution zu erwarten. Sie wurden bisher nicht beobachtet. Da, abgesehen von 2 Ausnahmen (*Verbena* und *Anagallis*, nach BEALE und Mitarbeitern, 1941), Gene für die Erzeugung stärker oxydierter Anthocyane stets über die für weniger oxydierte dominierten, wäre ferner an Stelle eines dominierenden Faktors für die Reduktion einer OH-Gruppe eher die Annahme des rezessiven Allels eines mit dem dominanten Methylierungsfaktor eng gekoppelten Oxydationsfaktors gerechtfertigt. Unter diesen Voraussetzungen und der Bezeichnung A = Methylierungs-, B = Oxydationsgen, wären päonidinhaltige Genotypen durch Ab/Ab, delphinidinhaltige durch aB/aB darzustellen. Die Kreuzung beider führte in der F_2 zur Aufspaltung $1\ Ab/Ab : 2\ Ab/aB : aB/aB$. Das heißt, daß in der F_1 ausschließlich ein petunidinhaltiger Neukombinationstyp auftreten müßte, der in den folgenden Generationen nur heterozygot zu erhalten wäre. Es wurden aber weder Neukombina-

tionstypen, noch 1:2:1-Spaltungen beobachtet, so daß dadurch die Möglichkeit der Kopplung eines Methylierungsgens mit einem *Oxydationsgen* ausgeschlossen wird und lediglich die Frage, ob die pleiotrope Wirkung eines Einzelgens oder die enge Kopplung zweier Faktoren, für die Methylierung in der 3′- und die Reduktion in der 5′-Stellung wahrscheinlicher ist, noch nicht beantwortet werden kann.

6. Faktor C. Gegen die Identifizierung des unter der Einwirkung des Gens *C* gebildeten Anthocyans mit den Glykosiden des Cyanidins könnte eine Reihe auf folgenden Gesichtspunkten beruhender Bedenken erhoben werden: Es ist einerseits wenig wahrscheinlich, daß ein Anthocyan mit nur 2 OH-Gruppen im Seitenphenylring eine schwach blauende und aufhellende Wirkung haben soll und andererseits ist es nicht ohne weiteres verständlich, daß in Gegenwart des dominenten Allels *S*, das unter anderem die Methylierung einer Hydroxylgruppe in der 3′-Stellung des Delphinidins oder Delphinidinvorläufers bedingt, nicht auch die entsprechende OH-Gruppe des Cyanidins oder eines möglichen Cyanidinvorläufers methyliert werden sollte.

Gegen den ersten Einwand könnte angeführt werden, daß Anthocyane amphoteren Charakters sind und mit Metallionen echte Salze zu bilden vermögen, die in weitem Umfang die Farbausbildung beeinflussen können (vgl. z. B. Paech 1950). Der zweite Einwand würde durch die Beobachtungen von Lawrence und Mitarbeitern (1939) an *Streptocarpus* und neuerdings auch von Dodds und Long (1955) an *Solanum*, daß Cyanidin- und Päonidinglykoside, ebenso wie bei Cyclamen, gleichzeitig in einer Blüte auftreten können, entkräftet. Das Gen *S* kann also offenbar nur solche Verbindungen modifizieren, die sowohl in der 3′- als auch in der 5′-Stellung oxydiert sind. Da genbedingte Prozesse allgemein als enzymatisch gesteuert angesehen werden, ist diese streng spezifische Wirkung des Faktors *S* nicht verwunderlich.

7. Faktor E. Entsprechend der Bildung spezifischer Anthocyane kann das durch den Faktor *E* kontrollierte, noch nicht identifizierte Flavonol (R_f 0,49) nur in Gegenwart des Flavonolgrundfaktors *F* gebildet werden. Diese weitgehende Analogie in der Entstehung der verwandten Pigmente, der Anthocyane und Flavonole, deutet immer wieder auf einen für beide Verbindungen gemeinsamen Ursprung hin. Aus der Literatur ist bisher noch kein Fall bekannt, in dem bei gleichzeitigem Vorkommen mehrerer Flavonole von der Abhängigkeit einer dieser Verbindungen von einem spezifischen Gen berichtet wird.

II. Über die Entstehung der Flavonoide.

Durch die Verbindung genetischer und papierchromatographischer Analysen konnte die biochemische Wirkung der Blütenfarbgene bei Cyclamen erschlossen werden. Hiervon ausgehend kann nunmehr die Frage nach der möglichen Entstehungsweise der Anthocyane und Flavonole, über die die Diskussion auf Grund von Untersuchungen an verschiedensten Objekten (vgl. Geissman und Hinreiner 1952) noch in vollem Gange ist, sowie die Frage nach dem Zusammenwirken der einzelnen Gene bei der Pigmentsynthese gestellt werden.

Von vorwiegend chemisch orientierter Seite wird auf Grund der chemischen Verwandtschaft der Anthocyane und Flavonole und auf Grund der in vitro leicht möglichen Reduktion der letzteren zu Anthocyanen oft die Ansicht einer direkten Umwandlung vertreten. Beobachtungen wie die von Sando und Mitarbeitern (1935) an *Zea mays* und von Sando (1937) an verschiedenen Apfelsorten, bei

denen gleich strukturierte Anthocyane und Flavonole gleichzeitig in einem Organ auftreten oder die Beobachtung von STÖRMER und WITSCH (1938) an Petunien, die bei der Blütenentwicklung ursprünglich eine starke, jedoch mit der später beginnenden Anthocyanbildung eine mehr und mehr abnehmende Flavonolkonzentration zeigen, oder die Beobachtung von MEHLQUIST und GEISSMAN (1946) an *Dianthus caryophyllus*, bei denen eine von der Anwesenheit des Flavonolgens abhängige Anthocyanbildung nachgewiesen wurde, machen die Annahme einer direkten Umwandlung der Flavonole zu Anthocyanen wahrscheinlich. Abgesehen von der Notwendigkeit weiterer biochemischer und genetischer Untersuchungen ist es aber bemerkenswert, daß in allen Fällen, in denen Anthocyane und Flavonole identifiziert wurden, 3′,4′-Dioxyverbindungen auftraten, die als die am häufigsten vorkommenden Vertreter ihrer Gattung anzusehen sind. Auf Grund der Untersuchungen zahlreicher anderer Autoren darf es aber nicht als Regel angesehen werden, daß gleichzeitig vorkommende Verbindungen, wie z. B. Cyanidin und Quercetin, einander homolog sind (vgl. GEISSMAN und HINREINER). LAWRENCE und SCOTT-MONCRIEFF postulierten 1935 die Parallelsynthese der Anthocyane und Flavonole aus gemeinsamen aber begrenzten Vorläufern, und ROBINSON nahm 1936 auf Grund chemischer Befunde an, daß die endgültigen C_6-C_3-C_6-Einheiten aus einer gemeinsamen einfachen C_6-Einheit (Phenol) und einer spezifischen, die Charakteristik des Pigments bestimmenden C_3-C_6-Einheit synthetisiert werden. Als Folge daraus müßte dann eine konstante Gesamtmenge von Anthocyanen und Flavonolen beobachtet werden können. Tatsächlich wurden auch von BUXTON und von SCOTT-MONCRIEFF (1932), von BEALE und Mitarbeitern (1939) und von DOUWES (1943) Gene ermittelt, die eine Abnahme der Anthocyan- bei entsprechender Zunahme der Flavonolkonzentration, und umgekehrt, verursachen. Es gibt aber auch Beispiele einer spezifischen auf nur eine oder beide Komponenten gleichsinnig wirkenden Supressor- oder Intensitätsgenwirkung (PHILP 1933; LAWRENCE und Mitarbeiter 1939; DE WINTON und Mitarbeiter 1933; GEISSMAN und MEHLQUIST 1947). Es muß demnach verschiedene Mechanismen der Flavonol- und Anthocyanbildung geben.

Der Nachweis einer genetisch bedingten Entstehung des Anthocyanidins Cyanidin und des Flavonols Quercetin aus einer gemeinsamen Leukovorstufe bei *Gossypium* durch STEPHENS (1948) führte zu einem neuen Gesichtspunkt in der Diskussion um die Biogenese der Flavonoide. Quercetin wird im Basalfleck der Baumwollpetalen unter dem Einfluß eines rezessiven Allels *g*, Cyanidin nur in Gegenwart der dominanten Allele *G* und *S* gebildet. STEPHENS nimmt eine durch *S* bedingte Reduktion der Leukovorstufe zu Anthocyan, eine durch *g* bedingte Oxydation der Leukovorstufe zu Flavonol an und stützt diese genetisch begründeten Vorstellungen durch die in vitro ausgeführte Reduktion der Leukosubstanz zu Cyanidin, bzw. Oxydation zu Quercetin. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß Leukoanthocyane die unmittelbaren Vorläufer beider Verbindungen sind.

Einer kritischen Betrachtung der bei Cyclamen vorgefundenen Situation möge eine kurze Zusammenfassung der für die Entwicklung einer Hypothese über die Flavonoidsynthese wichtigsten Beobachtungen vorausgeschickt werden.

a) Anthocyane und Flavonole werden unabhängig voneinander gebildet.

b) Spezifische Flavonol- und Anthocyangene können nur in Gegenwart der entsprechenden Grundfaktoren wirken.

c) *Ein* Genpaar (*S*/*s*) modifiziert sowohl die Struktur bestimmter Anthocyane als auch Flavonole. Das dominante Allel setzt die Konzentration der von der Modifikation offenbar nicht betroffenen Malvidinglykoside in der Petale oberhalb des Basalflecks herab.

d) In allen Cyclamenblüten können Leukoanthocyane nachgewiesen werden, deren Konzentration in ausschließlich anthocyan- oder ausschließlich flavonolhaltigen Blüten verringert ist.

Auf Grund der genetischen und chromatographischen Untersuchungsergebnisse kann nun folgendes geschlossen werden:

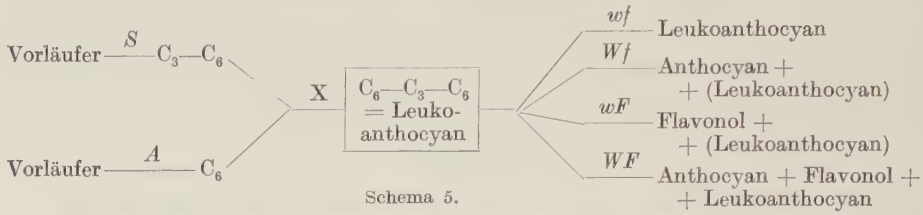
Die Entstehung der Anthocyane aus Flavonolen als unmittelbaren Vorläufern ist unwahrscheinlich, da dann mit einer komplementären Genwirkung und, bei Heterozygotie im *W*- und *F*-Locus, mit einer charakteristischen 9:7-Spaltung gerechnet werden müßte. Statt dessen wurde stets ein für die selbständige Genwirkung typisches 9:3:3:1-Verhältnis beobachtet. Alle Beobachtungen deuten vielmehr auf die Entstehung der Anthocyane und Flavonole aus den in allen Blüten vorhandenen Leukoanthocyanen, die selbst wieder aus allgemeinen und spezifischen Vorläufern aufgebaut werden. Für diese Annahme spricht einerseits die zweifache Wirkung des Faktors *S*, die nur zu verstehen ist, wenn durch ihn die Struktur eines allen Syntheseendgliedern noch gemeinsamen spezifischen Vorläufers bestimmt wird und andererseits die Pigmentverteilung in Knospen verschiedener Anthesestadien. Auf Grund papierchromatographischer Untersuchungen konnte nämlich eine Verbindung nachgewiesen werden, die wegen ihrer im Ammoniakdampf blauen UV-Fluoreszenz und wegen ihrer orange Farbreaktion nach Behandlung mit diazotierter Sulfanylsäure als Phloroglucin angesprochen werden könnte. Die Konzentration dieser Verbindung nahm mit zunehmender Knospengröße und steigender Menge der zur gleichen Zeit entstehenden Anthocyane und Flavonole merklich ab. Diese Beobachtung ließe sich gut mit der von Robinson und Scott-Moncrieff (1939) postulierten Bedeutung des Phloroglucins als allgemeinem Vorläufer vereinen. Sie stimmte ferner mit der von Birch und Mitarbeitern (1953) bei *Chlamydomonas* für die Bildung der als Sexualhormone wirkenden Flavonoidverbindungen Isorhamnetin und Päonin nachgewiesenen Genwirkkette überein, bei der das aus einer Anzahl einfacherer Vorläufer gebildete Phloroglucin mit Kaffeesäure über eine unbekannte Vorstufe zu Quercetin kondensiert wird, das nach einer Hypothese von Moewus (1951) über unbekannte Zwischenstufen entweder zu Isorhamnetin oder zu Päonidin umgewandelt werden soll.

Die Annahme, daß Leukoanthocyane die unmittelbaren Vorläufer der Anthocyane und Flavonole sind, wird durch die Beobachtung gestützt, daß in reinweißen Blüten (*wwff*) homologe Leukoanthocyane zu den in farbigen Blüten enthaltenen Anthocyanidinen vorhanden sind, deren Konzentration in anthocyanhaltigen *WWff*- oder flavonolhaltigen *wwFF*-Blüten stark herabgesetzt ist, jedoch in anthocyan- *und* flavonolhaltigen Blüten (*WWFF*) wieder ansteigt.

Wird nun angenommen, daß die Leukoanthocyane die Kondensationsprodukte der allgemeinen C_6- und der spezifischen C_3-C_6-Einheit sind und daß die Faktoren *F* und *W* Gene sind, die die Oxydationsstufe der Leukoanthocyane bestimmen, dann ist daraus die folgende Vorstellung abzuleiten.

Unter dem Einfluß eines noch unbekannten Faktors *A* wird die C_6-Grundsubstanz Phloroglucin gebildet, die mit der durch das Allelenpaar *S*/*s* bestimmten

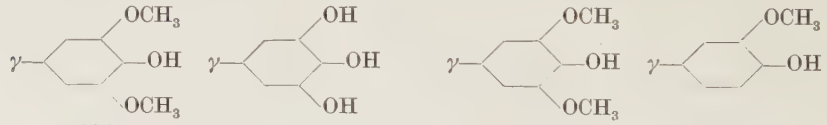
C_3-C_6-Einheit zu einer C_6-C_3-C_6-Verbindung, dem Leukoanthocyan, kondensiert wird. Das dominante Allel *W* ist dann in der Lage dieses Leukoanthocyan zu Anthocyan zu reduzieren, bzw. das dominante Allel *F* es zu Flavonol zu oxydieren. Ist nur einer der Faktoren vorhanden, läuft die Synthese bis zur stabilen Endstufe, dem Anthocyan (*WWff*) oder Flavonol (*wwFF*) ab, während bei gleichzeitiger Gegenwart der einander genau entgegen wirkenden Oxydations- und Reduktionsfaktoren (*WWFF*) ein labiler Gleichgewichtszustand entsteht. Ein Teil des Leukoanthocyans wird in die jeweilige Endstufe umgewandelt, der andere verbleibt im Stadium des Leukoanthocyans, das, offenbar unter dem Einfluß beider Faktoren, sehr instabil ist und durch Außeneinflüsse wie Botrytisbefall leicht eine Änderung erfahren kann, die sich in einer lokalen Rotfärbung der Petalen äußert (SEYFFERT 1955, Tabelle 5) (Schema 5).



Schema 5.

Der Vergleich dieser Hypothese mit den von STEPHENS (1948) über die Entstehung der Flavonole und Anthocyane entwickelten Vorstellungen zeigt in allen wesentlichen Punkten eine gute Übereinstimmung. Ein Unterschied besteht nur in der Tatsache, daß die Umwandlung der Leukosubstanz zum Flavonol bei der Baumwolle durch ein rezessives, bei Cyclamen durch ein dominantes Allel bedingt wird.

Ein weiteres Problem ergibt sich aus der Beobachtung, daß die Konzentration der in den Petalen anthocyanführender Pflanzen stets vorhandenen Malvidinglykoside in Gegenwart des dominanten Allels *S* vermindert, bzw. in *WWFFSS*-„weiß mit Auge"-Typen oberhalb des Basalflecks auf eine praktisch nicht mehr nachweisbare Menge reduziert ist. Diese Beobachtung ließe sich dann zwanglos erklären, wenn durch das Gen *S* neben der Methylierung in der 3′-Stellung eine generelle Reduktion sowohl in der 5′-Stellung des zur Delphinidin- als auch des zur Malvidinbildung befähigten spezifischen Vorläufers ausgelöst würde. In einer Pflanze vom Genotyp *WWIIffSS* würde eine Synthese dann etwa wie folgt verlaufen (Schema 6), wobei das Mengenverhältnis der spezifischen Vorläufer mit angenommenen Werten wiedergegeben ist:



2 Malvidinvorläufer + 1 Delphinidinvorläufer $\xrightarrow{S}$ 1 Malvidinvorläufer + 2 Päonidinvorläufer

wobei γ = unbekannt (—CH=CH—COOH ?) ist.

Schema 6.

Durch die Reduktion in der 5′-Stellung würde die Methylgruppe des Malvidinvorläufers freigesetzt und in der 3′-Stellung des in der 5′-Stellung reduzierten Delphinidinvorläufers angelagert, so daß eine zur Synthese des Päonidins befähigte Verbindung entstünde. Das hieße, daß der Vorläufer des Malvidins als Methyldonator, der des Delphinidins als Methylakzeptor anzusehen wäre und

ein der Menge des ursprünglich vorhandenen Delphinidinvorläufers äquivalenter Teil des Malvidinvorläufers zu einem Päonidinvorläufer umgebildet würde. Wenn diese Vorstellungen richtig sind, müßten sich einerseits die relativen Konzentrationen der Anthocyane etwa im angegebenen Verhältnis ändern, und andererseits dürfte nur dann Päonidin gebildet werden, wenn zuvor ein Delphinidinvorläufer zur Verfügung stand. Tatsächlich war aus der Größe der im Chromatogramm ausgebildeten Substanzflecke zu entnehmen, daß näherungsweise etwa doppelt soviel Päonidin in *SS*- als Delphinidin in *ss*-Genotypen vorhanden war und die Malvidinkonzentration bei gleichzeitiger Anwesenheit des Päonidins stark reduziert war. Auch die Forderung nach der Abhängigkeit der Päonidinbildung vom Vorhandensein eines Delphinidinvorläufers kann auf Grund der genetischen Untersuchungsergebnisse (Seyffert 1955, S. 283) mit großer Wahrscheinlichkeit als erfüllt angesehen werden. In diesem Zusammenhang ist noch bemerkenswert, daß nach Geissman und Hinreiner die 3′-Stellung des Flavangerüstes stets zuerst substituiert wird, d. h. daß eine Substitution in der 5′-Stellung erst dann erfolgen kann, wenn die 3′-Stellung bereits verschlossen ist.

Das bisher unverständliche Ausbleiben einer Anthocyanbildung in den oberhalb des Basalflecks gelegenen Teilen der Petalen von „weiß mit Auge" (*WWFFiiSS*) und „fast weiß mit Auge" (*WWFFIISS*) Pflanzen ließe sich analog zum Beispiel der *Dahlia variabilis*[1] (Lawrence und Scott-Moncrieff 1936) durch die Wechselwirkung von Faktoren mit unterschiedlicher Potenz erklären. Wird auch bei Cyclamen angenommen, daß Flavonolfaktoren eine stärkere Potenz als Anthocyanfaktoren besitzen, dann wird die einseitige Umwandlung der als unmittelbare Vorläufer angesehenen Leukoanthocyane, deren Spezifität durch die Entwicklerfaktoren festgelegt worden ist, zu Flavonolen verständlich. Dies ist so vorzustellen, daß eine Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen der Oxydation des Leukoanthocyans zu Flavonol (Faktor *F*) und der Reduktion zu Anthocyan (Faktor *W*) zugunsten der Oxydation stattgefunden haben muß. Ein Teil der Vorläufer verbleibt dabei im instabilen Stadium des Leukoanthocyans, das aber offenbar nur dann durch Außeneinflüsse wie Botrytisbefall geändert werden kann, wenn die Pflanzen auf Grund ihres Genotyps potentiell zu einer Anthocyanbildung befähigt sind. Pigmentfreie und rein flavonolhaltige Blüten zeigen nie die nach Botrytisbefall typische Rotfleckung.

Der eben entwickelten Vorstellung würde sich der leichte Farbanflug der „fast weiß mit Auge"-Petalen in Gegenwart des dominanten Allels *I* zwanglos durch die Erhöhung der Gesamtreduktionsfähigkeit einfügen. Als Folge davon müßte eine Reduktion der Leukoanthocyane durch Außeneinflüsse leichter möglich sein und dann eine stärkere Rotfärbung beobachtet werden können. Dies ist in der Tat der Fall: „Fast weiß mit Auge"-Pflanzen reagieren auf Botrytisbefall mit einer wesentlich kräftigeren Rotfärbung als „weiß mit Auge".

Die Petalenfarbe blauroter *WWFFss*-Pflanzen wäre trotz der stärkeren Wirkung der Oxydationsgene durch die größere zur Verfügung stehende Menge des

[1] Lawrence und Scott-Moncrieff stellten bei *Dahlia* fest, daß Gene für die Anthocyan- und Flavonolbildung in der Konkurrenz um einen gemeinsamen und begrenzten Vorläufer unterschiedlich stark wirken können. Als Maß für die Fähigkeit eines Gens, die Bildung bestimmter Pigmente zu beeinflussen, ermittelten sie sog. „Potential-Einheiten". Ein Vergleich dieser Potentialeinheiten lehrt, daß Flavonolgene, z. B. I = 1, Y = 9, stets eine höhere Potenz als Anthocyangene, z. B. A = 0,5, B = 6, besitzen.

nicht zur Synthese des Päonidin- bzw. Isorhamnetinvorläufers herangezogenen Malvidinvorläufers zu erklären, so daß eine zur Färbung der Petalen noch ausreichende Malvidinglykosidmenge gebildet werden kann. Möglicherweise ist auch die Potenz der Flavonolgene durch die Gegenwart des rezessiven Allels *s* vermindert.

Zusammenfassung.

Der Gehalt an Blütenfarbstoffen verschiedener Genotypen von *Cyclamen persicum* wurde mit Hilfe der Papierchromatographie untersucht. Durch den Vergleich der unter der Einwirkung bestimmter Allele entstandenen Pigmente konnte auf die Wirkung eines einzelnen Allels rückgeschlossen werden. Danach sind die dominanten Allele *W* und *F* als Grundfaktoren für die Bildung von Anthocyanen bzw. Flavonolen verantwortlich, deren Zahl, Art und Verteilung in der Petale durch spezifische Entwicklerfaktoren modifiziert werden kann.

W bildet selbst ein in allen anthocyanhaltigen Blüten zumindest im Auge vorhandenes Anthocyan, Malvidinglykosid, aus.

Die Entwicklerfaktoren *I*, *C* und *S* bedingen die Entstehung neben dem Malvidinglykosid zusätzlich auftretender Anthocyane, nämlich Delphinidin-, Cyanidin- und Päonidinglykosid.

Die Art der an die Anthocyanidine angelagerten Zuckermoleküle wird bei allen in einer Blüte enthaltenen Anthocyanen durch das Allelenpaar *M/m* bestimmt. *M* bedingt die Ausbildung von 3,5-Diglykosiden, *m* von 3-Pentoseglykosiden.

Die Zahl der durch den Grundfaktor *F* gebildeten Flavonole wird durch die zusätzliche Bildung eines weiteren, noch nicht identifizierten Flavonols durch den Faktor *E* von drei auf vier erhöht.

Das schon bei der Anthocyanbildung wirksame Allel *S* bedingt die Ausbildung einer spezifischen Flavonolstruktur, des Isorhamnetins, das dem durch das gleiche Allel gebildeten Anthocyan Päonidinglykosid homolog ist.

Die biochemische Wirkung der Faktoren wird diskutiert und aus der Art des Zusammenwirkens der Gene eine Vorstellung über die Entstehung der Anthocyane und Flavonole entwickelt. Danach ist es wahrscheinlich, daß Anthocyane und Flavonole aus gemeinsamen Vorläufern, aus Leukoanthocyanen entstehen, die selbst aus der Kondensation einer allen Leukoanthocyanen gemeinsamen Grundsubstanz (Phloroglucin) und einer postulierten spezifischen C_3-C_6-Verbindung hervorgehen.

Herrn Prof. Kappert möchte ich auch an dieser Stelle für die Überlassung des umfangreichen und wertvollen Materials, sowie für viele wertvolle Anregungen und sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit herzlich danken.

Literatur.

Bate-Smith, E. C.: Paper chromatography of anthocyanins and related substances in petal extracts. Nature (Lond.) **161**, 835 (1948). — Leuco-Anthocyanins I. Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues. Biochemic. J. **58**, 122—125 (1954). — Bate-Smith, E. C., and N. H. Lerner: Leuco-Anthocyanins. II. Systematic distribution of leuco-anthocyanins in leaves. Biochemic. J. **58**, 126—132 (1954). — Bate-Smith, E. C., and R. G. Westall: Chromatographic behaviour and chemical structure. I. Some naturally occuring phenolic substances. Biochem. et Biophysica Acta **4**,

427—440 (1950). — Beale, G. H.: The genetics of Verbena. I. J. Genet. **40**, 337—359 (1940). — Beale, G. H., R. Robinson and R. Scott-Moncrieff: Genetics and chemistry of flower colour variation in Lathyrus odoratus. J. Genet. **37**, 375—388 (1939). — Beale, G. H., R. J. Price and R. Scott-Moncrieff: The genetics of Verbena. II. J. Genet. **41**, 65—74 (1941a). — Beale, G. H., R. J. Price and V. C. Sturgess: A survey of anthocyanins. VII. The natural selection of flower colour. Proc. Roy Soc. Lond., Ser. B **130**, 113—126 (1941b). — Birch, A. J., F. W. Donovan and F. Moewus: Biogenesis of flavonoids in Chlamydomonas eugametos. Nature (Lond.) **172**, 902—907 (1953). — Blakeslee, A. F.: A chemical method of distinguishing genetic types of yellow cones in Rudbeckia. Z. Vererbungslehre **25**, 211—221 (1921). — Bradfield, A. E., and E. C. Bate-Smith: Chromatographie behaviour and chemical structure. II. The tea catechines. Biochim. et Biophysia. Acta **4**, 441—444 (1950). — Buxton, B. H.: Genetics of the primrose P. acaulis. J. Genet. **25**, 195—205 (1932). — Consden, R., A. H. Gordon and A. J. P. Martin: Qualitative analysis of proteins: A partition chromatographic method using paper. Biochemic. J. **38**, 224—232 (1944). — Cramer, F.: Papierchromatographie, 2. Aufl. Weinheim 1953. — Crane, M. B., and W. J. C. Lawrence: The genetics of garden plants, 4. Aufl. London 1952. — Dodds, K. S., and D. H. Long: The inheritance of colour in diploid potatoes. I. Types of anthocyanidins and their genetic loci. J. Genet. **53**, 136—149 (1955). — Douwes, H.: Een genetisch-chemisch Onderzoek van Eschcholtzia californica Cham. Genetica ('s-Gravenhage) **23**, 353—452 (1943). — Evans, R. A., W. H. Parr and W. C. Evans: Paper partition chromatography of phenolic substances. Nature (Lond.) **164**, 674 (1949). — Gage, Th. B., and S. H. Wender: Quantitative determination of certain flavonol-3-glykosides. Analyt. Chemistry **22**, 708—711 (1950). — Geissman, T. A., and E. Hinreiner: Theories of the biogenesis of flavonoid compounds. Bot. Review **18**, 77—244 (1952). — Geissman, T. A., and G. A. L. Mehlquist: Inheritance in the carnation, Dianthus caryophyllus. IV. The chemistry of the flower color variation. Genetics **32**, 410 bis 433 (1947). — Haldane, J. B. S.: The biochemistry of genetics, 1. Aufl. London 1954. — Kappert, H.: Die Bedeutung der Polyploidie in der Cyclamenzüchtung. Züchter **13**, 106 bis 114 (1941). — Die Genetik des incana-Charakters und der Anthocyanbildung bei der Levkoje. Züchter **19**, 289—297 (1949). — Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung, 2. Aufl. Berlin 1953. — Karrer, P.: Lehrbuch der organischen Chemie, 11. Aufl. Stuttgart 1950. — Klein, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III/2. Wien 1932. — Lawrence, W. J. C., R. J. Price, G. M. Robinson and R. Robinson: A survey of anthocyanins. V. Biochemic. J. **32**, 1661—1667 (1938). — Lawrence, W. J. C., and R. Scott-Moncrieff: The genetics and chemistry of flower colour in Dahlia: A new theory of specific pigmentation. J. Genet. **30**, 155—226 (1935). — Lawrence, W. J. C., R. Scott-Moncrieff and V. C. Sturgess: Studies on Streptocarpus. I. Genetics and chemistry of flower colour in garden strains. J. Genet. **38**, 299—306 (1939). — Mehlquist, G. A. L., and T. A. Geissman: Inheritance in the carnation, Dianthus caryophyllus. III. Inheritance of flower color. Ann. Missouri Bot. Garden **34**, 39—74 (1947). — Moewus, F.: Die Sexualstoffe von Chlamydomonas eugametos. Erg. Enzymforsch. **12**, 173—206 (1951). — Über die Biosynthese des Quercetins. Angew. Chem. **65**, 561 (1953). — Newton, W. C. F.: The inheritance of flower colour in Papaver Rhoeas and related forms. J. Genet. **21**, 389—404 (1929). — Paech, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe, 1. Aufl. Berlin 1950. — Philp, J.: The genetics of Papaver Rhoeas and related forms. J. Genet. **28**, 175—203 (1933). — Robinson, G. M., and R. Robinson: A survey of anthocyanins. I. Biochemic. J. **25**, 1687 bis 1705 (1931). — A survey of anthocyanins. II. Biochemic. J. **26**, 1647—1664 (1932). — A survey of anthocyanins. III. Biochemic. J. **27**, 206—212 (1933). — A survey of anthocyanins. IV. Biochemic. J. **28**, 1712—1720 (1934). — Robinson, R.: The formation of anthocyanins in plants. Nature (Lond.) **137**, 172 (1936). —Sando, C. E.: Coloring matters of the grimes golden, Jonathan and Stapman winesap apples. J. of Biol. Chem. **117**, 45—56 (1937). — Sando, C. E., R. T. Milner and M. S. Sherman: Pigments of the mendelian color types in maize: Chrysanthemin from purple husked maize. J. of Biol. Chem. **109**, 203—211 (1935). — Scott-Moncrieff, R.: A note on the anthocyanin pigments of the primrose P. acaulis. J. Genet. **25**, 206—210 (1932). — A biochemical survey of some mendelian factors for flower colour. J. Genet. **32**, 117—170 (1936). — The genetics and biochemistry of flower colour variation. Erg. Enzymforsch. 8, 277—306 (1939). — Seyffert, W.:

Untersuchungen über die Genetik der Cyclamenfarben. Diss. Berlin 1954. — Die Vererbung der Blütenfarben bei hemiploiden Cyclamen. Züchter **25**, 275—287 (1955). — Stephens, S. G.: A biochemical basis for the pseudo-allelic anthocyanin series in Gossypium. Genetics **33**, 191—214 (1948). — Störmer, J., u. H. v. Witsch: Chemische und entwicklungsphysiologisch-genetische Untersuchungen über das Blütenfarbmuster der Gartenpetunie. Planta (Berl.) **27**. 1 (1938). — Sutton, E.: The genetics of Tropaeolum majus. II. J. Genet. **38**, 161—176 (1939). — Wellensiek, S. J.,: The breeding of cyclamens. Rep. 13. internat. Hort. Congr., S. 771—777, 1952. — Wellensiek, S. J., J. Doorenbos en I. de Haan: Systematiek, Cytologie en Genetica van Cyclamen. Meded. Dir. Tuinb. **13**, 608—619 (1950). — Wender, S. H., and T. B. Gage: Paper chromatography of flavonoid pigments. Science (Lancaster, Pa.) **109**, 287 (1949). — Werckmeister, P.: Papierchromatographische Studien zur Blütenfarbenzüchtung. Naturwiss. **39**, 328—329 (1952a). — Möglichkeiten und Wege der Farbenzüchtung. Gartenwelt **16**, 259—260, 281—282 (1952b). — Papierchromatographische Untersuchungen von Zellfarbstoffen und ihre Bedeutung für die Blütenfarbenzüchtung. Ber. 1952/53 Lehr- u. Forschungsanstalt Wein-, Obst- und Gartenbau Geisenheim, S. 16—22, 1953. — Papierchromatographische Untersuchungen von Anthozyanen und chymochromen Begleitstoffen zur Frage der Blütenfarbenzüchtung. Züchter **24**, 224—242 (1954). — Wheldale, M.: Die Vererbung der Blütenfarbe bei Antirrhinum majus. Z. Vererbungslehre **3**, 321—333 (1910). — Our present knowledge of the chemistry of the mendelian factors for flower colours. J. Genet. **4**, 109—129 (1914). — Wheldale, M., and H. Basset: The chemical interpretation of some mendelian factors for flower colour. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **87**, 300—311 (1914). — Winton, D. de, and J. B. S. Haldane: The genetics of Primula sinensis. II. Segregation and interaction of factors in the diploid. J. Genet. **27**, 1—44 (1933). — Wit, F.: Contributions to the genetics of the china aster. Diss. Groningen 1936.

Dr. Wilhelm Seyffert, Berlin-Dahlem,
Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung.

Band 87 **Inhalt** 2. Heft

Seite

REIMANN-PHILIPP, R., Genetische Untersuchungen an den Tetraden einer höheren Pflanze *(Salpiglossis variabilis)*. Mit 3 Textabbildungen 187

WADDINGTON, C. H., On a case of quantitative variation on either side of the wild type. With 12 figures in the text 208

BERTSCHMANN, M., Versuche zur phänokopierenden Wirkung von Chemikalien (Nitrogen-Mustard u. a.) bei *Drosophila melanogaster*. Mit 16 Textabbildungen . . . 229

CHROMETZKA, P., Zur Kenntnis der Morphologie und des Wuchsstoffverhaltens der *Oenothera hybrida* Mut. *helix*. Mit 16 Textabbildungen 267

KNAPP, E., und E. MÖLLER, Tetradenanalytische Auswertung eines 3-Punktversuchs bei *Sphaerocarpus donnellii* AUST. Mit 3 Textabbildungen 298

SEYFFERT, W., Über die Wirkung von Blütenfarbgenen bei Cyclamen 311

Grundriß der Mikrobiologie

Von Dr. **August Rippel-Baldes**, o. Professor an der Universität Göttingen. Dritte Auflage. Mit 160 Abbildungen. VI, 418 Seiten Gr.-8⁰. 1955.

Ganzleinen DM 45.—

Inhaltsübersicht: **Allgemeines:** Umgrenzung des Gebietes. Geschichtliches. Kultur- und Erkennungsverfahren. — **Der Bau der Zelle:** Form und Größe der Zelle. Bau der Zelle und des Zellverbandes. Entwicklung der Zelle und des Zellverbandes. Systematische Übersicht. — **Baustoffwechsel:** Allgemeines. Mineralstoffe. Kohlenstoff. Stickstoffernährung. Organische Wirkstoffe. Allgemeine äußere Bedingungen. Ertragsgesetz. Förderung durch stoffwechselfremde Stoffe. Nahrung und Gift. Gifte und Desinfektion. — **Betriebsstoffwechsel:** Allgemeines. Enzyme. Sauerstoff- und Wasserstoffaktivierung. Aerobe Atmung. Anaerobe Atmung. Abbau der Stickstoffverbindungen. — **Abbau und Synthese.** — **Die Stellung der Mikroorganismen in der Natur:** Allgemeines über Zahl und Vorkommen. Verbreitung der Mikroorganismen. Zusammenleben der Organismen: Kreislauf der Stoffe. Metabiose und Teilkreisläufe. Epiphytismus und Symbiose. Mikroorganismen und Mensch. Der Parasitismus. Rückblick auf Symbiose und Parasitismus. — Hinweise auf zusammenfassende Literatur. — Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Im September 1955 erschien:

Eugen Bleuler

Lehrbuch der Psychiatrie

Neunte Auflage. Umgearbeitet von **Manfred Bleuler**, Zürich, unter Mitwirkung von J. Berze, Wien, R. Hess, Zürich, F. Meggendorfer †, Erlangen, S. Scheidegger, Basel, W. Villinger, Marburg/Lahn. Mit 86 Abbildungen. XII, 583 Seiten Gr.-8°. 1955. Ganzleinen DM 48.—

Inhaltsübersicht: **Allgemeiner Teil.** A. Die Entwicklung der Persönlichkeit und ihrer Störungen. — B. Psychologische Wegleitung und allgemeine Psychopathologie anhand der einzelnen psychischen Funktionen. I. Bewußtes und unbewußtes psychisches Leben. II. Allgemeines über einzelne psychische Funktionen. Ihre fehlende Selbständigkeit. III. Die zentripetalen Funktionen. IV. Begriffe. V. Denken. VI. Gedächtnis. VII. Orientierung. VIII. Affektivität. IX. Aufmerksamkeit. X. Suggestion und Suggestibilität. XI. Die Persönlichkeit, das Ich. XII. Die zentrifugalen Funktionen. — C. Die Körperbefunde in der Psychiatrie. I. Psyche, Körper und Hirn. II. Bedeutung der Körperbefunde. III. In der Psychiatrie besonders häufige Körperbefunde. — D. Einteilung der Geistesstörungen. I. Überwindung der älteren Versuche, ein „System der Geisteskrankheiten" aufzustellen. II. Zustandsbilder und Syndrome. III. Die Grundformen psychischer Erkrankungen. — E. Verlauf der psychischen Störungen. — F. Grenzen des „Irreseins". G. Die psychiatrische Untersuchung. I. Grundsätzliches. II. Psychodiagnostische Testverfahren. III. Differentialdiagnostische Bedeutung psychopathologischer Befunde. — H. Ursachen der psychischen Störungen. — J. Vorbeugung und Behandlung. I. Vorbeugung. II. Psychotherapie. III. Die modernen „großen", kurmäßig durchgeführten, somatischen Behandlungsverfahren in der Psychiatrie. IV. Arzneimittel in der Psychiatrie. V. Psychochirurgie. VI. Psychiatrische Krankenhausbehandlung. VII. Verschiedene weitere therapeutische Fragen. — **Spezieller Teil.** A. Geistesstörungen in engem Zusammenhang mit Körperkrankheiten. I. Einleitung: Die Grundformen psychischen Krankseins bei Körperkrankheiten. II. Alterspsychosen (seniles und präseniles Irresein). III. Syphilitische Psychosen. IV. Psychische Störungen bei anderen Hirnkrankheiten. V. Hirnschädigungen durch äußere Gewalt. VI. Alkoholvergiftungen. VII. Andere Vergiftungen. VIII. Endokrine Erkrankungen. IX. Stoffwechselvergiftungen. X. Epilepsien (Krampfkrankheiten). — B. Die „endogenen" Geistesstörungen. I. Schizophrenien (Dementia praecox). II. Manisch-depressives Kranksein. (Gruppe der Affektpsychosen.) — C. Krankhafte Reaktionen („psychoreaktive" oder „psychogene" Störungen). I. Allgemeines. II. Die Wahnbildungen. III. Krankhafte Reaktionen vornehmlich thymopsychischer (affektiver) Art. IV. Zwangsneurosen. V. Neurasthenisches Syndrom. VI. Krankhafte Reaktionen mit vorwiegend körperlichem Ausdruck. VII. Hysterische Syndrome. „Die Hysterie". VIII. Ursächlich umschriebene psychoreaktive Krankheitsbilder. — D. Persönlichkeitsstörungen in Beziehung zu angeborenen Persönlichkeitsvarianten. I. Psychopathien (Psychopathische Persönlichkeiten). II. Oligophrenien (angeborene und früherworbene Schwachsinnszustände). — Das Notwendigste aus der gerichtlichen Psychiatrie: A. Strafrecht. B. Bürgerliches Recht. Zivilrecht. C. Die Gutachtentätigkeit. D. Forensische Bedeutung der einzelnen Krankheiten. — Sachverzeichnis. — Erklärung der griechischen Ausdrücke.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen zwei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, bei.

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg.
Printed in Germany.